NAHRUNGSAUFNAHME UND NATALITÄT BEI PALAEARKTISCHEN UND AFRIKANISCHEN SIMULIIDEN (DIPTERA)

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Biologie
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
HANS-PETER WIRTZ
aus Cochem

1983

NAHRUNGSAUFNAHME UND NATALITÄT BEI PALAEARKTISCHEN UND AFRIKANISCHEN SIMULIIDEN (DIPTERA)

DISSERTATION

zur

Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

der Fakultät für Biologie

der Eberhard-Karls-Universität

Tübingen

vorgelegt von

HANS-PETER WIRTZ

aus Cochem

1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Für Michaela und meinen Vater

Tag der mündlichen Prüfung:	31.05.1983
Dekan:	Prof. Dr. K.P. Hadeler
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. P. Wenk
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. E. Kulzer

I N H A L T

I. Blutfütterung von Boophthora erythrocephala De Geer und Wilhelmia lineata Meigen am Kaninchen

1.	EINLEITUNG	1
2.	MATERIAL und METHODIK	3
2.1.	Herkunft der Mücken	3
2.2.	Alterszusammensetzung der Freilandpopulationen	4
2.3.	Wirte und Fütterungstechnik	4
2.4.	Haltung der Mücken und Eiablage	5
2.5.	Statistische Auswertung	5
3.	ERGEBNISSE	6
3.1.	Verluste beim Blutsaugen	6
3.2.	Blutsaugen am Kaninchen	6
3.2.1.	Anflug-♀♀	6
3.2.2.	Puppen-♀♀	7
3.3.	Insemination	7
3.4.	Mortalität während der Eireifungsphase	8
3.5.	Eientwicklung und Eiablage	8
3.6.	Blutmenge und Eizahl	10
3.7.	Alterszusammensetzung der Freilandpopulation	11
3.8.	Retentionsrate im Freiland und Larvenentwicklung	11
4.	DISKUSSION	12
4.1.	Blutfütterung	12
4.2.	Einfluß des Alters auf das Blutsaugen von Puppen-♀♀	14
4.3.	Eireifung	14
4.3.1.	Überlebensraten	14
4.3.2.	Oviposition	15
4.3.3.	Alter und Natalität	16
4.3.4.	Blutmenge, Blutqualität und Natalität	16
4.3.5.	Embryonalentwicklung der Larven	17
4.4.	Produktionsmodell	18
5.	ZUSAMMENFASSUNG	20
	Abstract	22
	Abbildungen und Tabellen	23

II. Blutfütterung von Boophthora erythrocephala De Geer und Wilhelmia lineata Meigen durch Membranen 31

1. EINLEITUNG 31
2. MATERIAL und METHODIK 33
2.1. Mückenmaterial 33
2.2. Saugapparatur 33
2.3. Membranen 34
2.4. Membranspannung 34
2.5. Physikalische Charakterisierung der Membranen 35
2.6. Blutarten 35
2.7. Fütterung und Haltung der Mücken 36
2.8. Statistische Auswertung 36
3. ERGEBNISSE 37
3.1. Charakterisierung der Membran 37
3.2. Fütterungsraten bei verschiedenen Membranen 38
3.3. Vergleich der Blutarten 39
3.4. Einfluß der Membrantemperatur 39
3.5. Besamungsrate und Blutsaugen 40
3.6. Optimierung der Fütterungstechnik 40
3.7. Überlebensraten, Eientwicklung und reale Natalität 40
4. DISKUSSION 42
4.1. Membranen 42
4,2. Blutarten und Zusatzstoffe 44
4.3. Eientwicklung und Natalität 45
5. ZUSAMMENFASSUNG 48
Abstract 50
Abbildungen und Tabellen 51

III. Blutfütterung von Weibchen des Simulium damnosum Theobald-Komplexes durch Membranen 59

1. EINLEITUNG 59
2. MATERIAL und METHODIK 61
2.1. Allgemeines 61
2.2. Fütterung durch Membranen 62
2.3. Blutsaugen am Kaninchen 62
2.4. Haltung der Weibchen nach der Blutfütterung 63

2.5. Statistische Auswertung 63

3. ERGEBNISSE 63

3.1. Fütterungsraten für verschiedene Membranen und Blutarten 63

3.2. Membrantemperatur und Blutsaugen 65

3.3. Alter und Blutsaugen 66

3.4. Natalität und Eiablage 66

3.5. Größe der Blutmahlzeit und Eizahl 67

4. DISKUSSION 68

4.1. Fütterungsraten 68

4.2. Natalität und Oviposition 70

5. ZUSAMMENFASSUNG 73

Abstract 75

Abbildungen und Tabellen 76

IV. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen der Mundwerkzeuge von Wilhelmia lineata Meigen während des Blutsaugens 83

1. EINLEITUNG 83

2. MATERIAL und METHODIK 83

3. ERGEBNISSE und DISKUSSION 84

4. Abbildungen 87

V. Literatur 95

I. Blutfütterung von Boophthora erythrocephala De Geer und Wilhelmia lineata Meigen am Kaninchen

1. Einleitung:

Obwohl die Biologie der blutsaugenden Simuliiden auf Grund ihrer großen wirtschaftlichen und medizinischen Bedeutung gründlich untersucht wird, ist über ihre Physiologie des Blutsaugens noch recht wenig bekannt (CUPP 1981). Da Freilandbeobachtungen und -experimente hierbei meist lückenhaft bleiben, erscheint der Aufbau einer sich selbst erhaltenden Laboratoriumskolonie besonders wichtig. Eine dauerhafte Simuliidenkolonie anautogener Simuliiden ist bis heute nicht restlos gelungen. Die Weibchen aller epidemiologisch bedeutsamen Simuliidenarten benötigen in jedem gonotrophischen Zyklus mindestens eine Blutmahlzeit zur Eientwicklung. Die Blutfütterung ist jedoch mitunter technisch ziemlich schwierig.

Neben der Blutfütterung ist die Eiproduktion bei der Zucht von Insekten der wichtigste Parameter, da an dieser Stelle sämtliche Verluste des Lebenszyklusses wieder wettgemacht werden müssen. Die potentielle Natalität von Simuliiden-Populationen kann in einzelnen Jahren, zu verschiedenen Jahreszeiten bzw. Generationen zum Teil beträchtlich schwanken (RÜHM und HECHLER 1974, HECHLER und RÜHM 1976, COLBO 1982), weiterhin ist aus Untersuchungen unter anderem bei Musciden, Culiciden, Glossinen und Reduviiden bekannt, daß auch das Blut der Wirtstierarten die Anzahl der sich in den Ovarien entwickelnden Eier mitbeeinflußt (TATE and VINCENT 1936, WIGGLESWORTH 1960, FRIEND et al. 1965, DAVIES ANDERSON 1967, WETZEL and LUGER 1978).

Da die palaearktischen Simuliiden Bocphthora erythrocephala und Wilhelmia lineata im Laboratorium spontan kopulieren (DAVIES 1965, WENK 1965), zu genügend hohen Prozentsätzen Blut aufnehmen und entwicklungsfähige Eier ablegen (WENK 1965, RÜHM 1973) und B. erythrocephala bereits über drei Generationen im Laboratorium gezüchtet werden konnte (GRUNEWALD 1973), standen diese beiden Arten im Mittelpunkt der Untersuchungen.

Für Blutsaugeversuche mit Simuliiden wird gewöhnlich das Kaninchen verwendet. Es ist nicht bekannt, ob das Kaninchen für B. erythrocephala und W. lineata gegenüber den natürlichen Blutwirten wie Rind und Pferd gleichwertig ist oder sogar Vorteile aufweist. Außerdem sollte untersucht werden, ob Unterschiede bestehen zwischen Mücken, die wenige Tage oder auch nur Stunden nach dem Schlüpfen aus der Puppe zum Blutsaugen kommen (tenerale Mücken) und die zuvor nur Zuckerwasser oder Dextrose erhalten haben und solchen Mücken, die beim Anflug auf einen Blutwirt im Freiland gefangen (Anflug-♀♀) und danach ans Kaninchen angesetzt wurden. Diese letzteren Mücken könnten zum Blutsaugen besonders stimuliert sein. Dementsprechend wurden in den vorliegenden Versuchen tenerale-♀♀ (Puppen-♀♀) und Anflug-♀♀ am Kaninchen zum Blutsaugen angesetzt, später die von ihnen entwickelten Eier gezählt und die daraus schlüpfenden Larven bestimmt. Mücken-♀♀, die im Freiland Rinder angeflogen und an diesen Blut gesaugt hatten (Rinderblut-♀♀), dienten als Kontrolle.

Für die Anregung und Unterstützungen zu der Arbeit möchte ich Herrn Dr. habil. J. Grunewald und Herrn Prof. Dr. P. Wenk herzlich danken. Ferner gilt mein Dank Herrn Förster K. Schmidt und dem verstorbenen Oberlehrer Herrn G. Schlörer für ihre Hilfe bei Freilanduntersuchungen in Diersheim, Herrn Dr. K. Wittkowski, Institut für medizinische Biometrie, für die Beratungen bei der statistischen Auswertung.

2. Material und Methodik:

2.1. Herkunft der Mücken:

Die verwendeten Simuliiden stammten aus dem Oberrheintal bei Kehl. Von weidenden Rindern wurden B. erythrocephala-♀♀ von der Unterseite des Rumpfes und dem Euter, W. lineata-♀♀ von den Ohren abgefangen (WENK und SCHLÖRER 1963). Neben diesen Weibchen, die bereits Blut gesaugt hatten (Rinderblut-♀♀), wurden außerdem Weibchen abgefangen, die die Rinder zwar angeflogen, aber noch kein Blut aufgenommen hatten (Anflug-♀♀).

Die Rinderblut-♀♀ wurden zur Blutverdauung einzeln in Röhrchen gesetzt. Die Anflug-♀♀ wurden entweder unmittelbar nach dem Fang oder im Laufe der folgenden Stunden bis Tage zum Blutsaugen am Kaninchenohr angesetzt. Von den Wilhelmia-♀♀ gehörten bei den Rinderblut-♀♀ 86 - 100 %, bei den Anflug-♀♀ 93 - 100 % der Art W. lineata und nur der kleinere Teil der Art W. equina an. Sie lassen sich äusserlich kaum unterscheiden, jedoch besitzt das Weibchen von W. lineata eine viermal grössere Spermatophore. Es werden in der vorliegenden Arbeit nur die Ergebnisse von W. lineata berücksichtigt.

Ausserdem wurden auch im Laboratorium aus Puppen geschlüpfte Weibchen (Puppen-♀♀) verwendet. Wasserpflanzen mit anhaftenden Puppen wurden im Freiland gesammelt, in Plastikbeuteln verpackt in einer Kühltasche ins Laboratorium gebracht und in Schlüpfkäfigen (WENK and RAYBOULD 1972) ausgelegt. Bei einer Raumtemperatur von 18 - 20°C schlüpften die Mücken innerhalb von 1 - 7 Tagen.Aus dem fraglichen Brutplatz erhielten wir von W. lineata 78 - 80 %, von W. equina 1 - 3 % und von B. erythrocephala 19 % aller geschlüpften Imagines. Diesen Puppen-♀♀ wurde im Laboratorium täglich bis alle zwei Tage eine 10 - 25 %ige Dextrose- bzw. Rohrzuckerlösung geboten.

2.2. Alterszusammensetzung der Freilandpopulationen:

Von Mai bis Oktober wurden stichprobenartig Anflug-♀♀ von W. lineata gefangen, um die Altersstruktur der Freilandmücken, die zu Blutsaugeversuchen eingesetzt wurden, zu bestimmen. An Hand des Zustandes der Malpighischen Gefäße, des Fettkörpers und der Gonaden (Restkörper) konnten pare und nullipare Weibchen gut unterschieden werden. (DAVIES 1955 , RÜHM 1970).

2.3. Wirte und Fütterungstechnik:

Als Blutwirte dienten vorwiegend dunkelhaarige Kaninchen-♀♀. Diese wurden in einem Fixiergerät (RÜHM 1968) eingespannt, Rücken und Ohren aber nicht geschoren. Nach Verschließen der Gehörgänge mit einem Schaumstoffpfropfen wurde eine konische Drahtspirale mit dem weiten Ende nach unten ins Ohr gelegt (GRUNEWALD und WIRTZ 1978) und die Ohren mit einer Gazehaube umhüllt. Am Abend vor dem Ansetzen der Mücken zum Blutsaugen wurden die mit Zuckerwasser getränkten Wattebäusche aus den Mückenkäfigen bzw. von den Deckeln der Haltungsröhrchen entfernt, um die Saugaktivität der Puppen- bzw. Anflug-♀♀ nicht herabzusetzen (WENK 1965). Jeweils 5 - 30 Mücken wurden mit einem langen Exhaustor in die Ohröffnung hinein geblasen. Danach wurde ein feuchtes Tuch über die fixierten Kaninchenohren gelegt und die Mücken für 20 - 70 Minuten in den Ohren belassen. Um die Abhängigkeit der Eizahl von der aufgenommenen Blutmenge zu ermitteln, wurden in einigen Versuchsserien Weibchen vor und nach dem Blutsaugen auf einer Analysenwaage (Sartorius 2001 MP2) gewogen. Für Rinderblut-♀♀ konnte naturgemäß nur das Körpergewicht nach dem Blutsaugen festgestellt werden. Die aufgenommene Blutmenge berechnet sich aus der Differenz des durchschnittlichen Körpergewichtes von Rinderblut-♀♀ und dem Körpergewicht der Anflug-♀♀, die am gleichen Tag gefangen worden waren.

2.4. Haltung der Mücken und Eiablage:

Die mit Blut gefütterten Mücken wurden einzeln in 4 ml Kunststoffröhrchen (30 x 15 mm) gehalten, die mit eigens zugeschnittenen Filterpapierstreifen versehen waren (Abb. 1). Der Papierstreifen diente den Mücken als Rastplatz, zum Hochklettern zur Zuckeraufnahme sowie angefeuchtet als Substrat für die spätere Eiablage (LEWIS 1960, DUKE 1962). Zum Füttern wurden kleine Wattekugeln getränkt mit Dextrose- oder Rohrzuckerlösung auf die Gaze gelegt. Die Röhrchen kamen zu je 36 Stück in Gefrierdosen (11 x 11 cm). Auf diese Weise ließen sich die Mücken bei 18 - 24°C im Dunkeln mehr als eine Woche lang halten. Mücken ohne deutlich sichtbare Blutmahlzeit wurden sofort nach dem Blutsaugeversuch auf die Art hin bestimmt und auf Spermatozoen im Receptaculum seminis untersucht.
Zur Eiablage kamen die Mücken wegen der im Röhrchen zunehmenden Verschmutzung durch Kot oder Schimmel nach 3 - 4 Tagen in ein frisches Röhrchen und das eingestellte Filterpapier wurde mit Leitungswasser angefeuchtet, bis es ein Wasserfilm überzog (RÜHM 1973). Die Mücken legten innerhalb von 1 - 2 Tagen auf das angefeuchtete Papier Eier ab. Die Eigelege wurden in mit Leitungswasser gefüllte Petrischalen gebracht, die Eier ausgezählt und ihre weitere Entwicklung beobachtet. Simuliiden-♀♀, die vor oder ohne Eiablage starben, wurden aufpräpariert und ihre Eier ausgezählt. Eine Präparation der Weibchen, die Eier abgelegt hatten, erfolgte ebenfalls, um eventuell nach der Eiablage zurückgebliebene Eier (Retentionseier) sowie eine Besamung der Weibchen im Receptaculum seminis feststellen zu können.

2.5.Statistische Auswertung:

Zum Signifikanztest der Fütterungsraten am Kaninchenohr wurden die m x n-Tafeln benutzt (CAVALLI-SFORZA 1972), zum Vergleich der ermittelten Eizahlen der U-Test von MANN and WHITNEY (1947).

3. Ergebnisse:

3.1. Verluste beim Blutsaugen:

In neun Vorversuchen mit Anflug-♀♀ von B. erythrocephala betrug die durchschnittliche Verlustrate der Mücken, die beim Blutsaugen im Kaninchenohr umgekommen bzw. beim Hantieren entkommen waren, 53 %. Nach Einlegen einer konischen Spirale in das Kaninchenohr betrug sie in Versuchen mit über tausend Individuen pro Art nur noch 6,6 %, bei Puppen-♀♀ 2,7 %. Die entsprechenden Verlustraten von W. lineata lagen sowohl bei Anflug-♀♀ mit 10,8 % als auch Puppen-♀♀ mit 4,4 % nur wenig darüber.

3.2. Blutsaugen am Kaninchen:

3.2.1. Anflug-♀♀:

In jeweils rund 50 Einzelversuchen wurden je zehn Weibchen, die einen Tag zuvor beim Anflug auf ein Rind abgefangen worden waren, einem Kaninchen ins Ohr gesetzt. B. erythrocephala hatte durchschnittlich zu 74,1 % äußerlich sichtbar Blut aufgenommen, die höchsten Saugraten lagen im Juli und August mit 80 %, die niedrigste im Juni mit 61 %. W. lineata nahm zu 39,8 % Blut vom Kaninchen auf. Die höchsten Saugraten wurden im September und Oktober, die niedrigste im Juli erzielt (Abb. 2). Präparierte man die makroskopisch als "ohne Blut" aussortierten Weibchen, so hatten diese doch zu 5 % eine kleine, äußerlich nicht erkennbare Blutmahlzeit aufgenommen.

Zur Klärung der Frage, ob Anflug-♀♀ besonders zur Blutaufnahme stimuliert sind und wie lange diese Stimulation nach Fang anhält, wurden Weibchen beider Arten in verschiedenen Zeitabständen nach dem Abfangen vom Rind ans Kaninchenohr angesetzt. Während B. erythrocephala auch 1 bis 4 Tage nach Fang zu über 70 % Blut aufnahm, zeigten W. lineata-♀♀ ein deutliches Saugmaximum fünf Minuten nach Fang (Abb. 3).

Die beiden Ohren des braunen weiblichen Kaninchens waren für die beiden Simuliidenarten unterschiedlich attraktiv ($p < 0,01$): Bei B. erythrocephala betrug die durchschnittliche Saugrate 74,7 % für das rechte und 64,3 für das linke Ohr. Für Weibchen von W. lineata dagegen wurden am linken Ohr um 12 % höhere Fütterungsraten erzielt als am rechten Ohr. Temperaturmessungen an beiden Ohren ergaben einen Durchschnittswert von 34,9°C für das rechte Ohr und 35,4°C für das linke Ohr (Tab. 1).

Temperaturmessungen im Freiland an Rindern erbrachten für die Bauch- und Euterregion, die von B. erythrocephala gezielt zum Blutsaugen angeflogen wird, deutlich geringere Hauttemperaturen als für die Innenseite der Ohren, wo W. lineata-♀♀ Blut aufnehmen (vergl. Teil II).

3.2.2. Puppen-♀♀:

Weibchen, die aus Puppen geschlüpft waren, wurden wenige Stunden bis neun Tage später Kaninchen in die Ohren gesetzt. Von B. erythrocephala nahmen 533 ♀♀ durchschnittlich zu 78,1 %, von W. lineata 722 ♀♀ etwas weniger, nämlich zu 47,9 % Blut auf (Abb. 2). Vier bis sechs Tage nach dem Schlüpfen zeigten B. erythrocephala-♀♀ im September mit etwa 85 % die höchste Saugaktivität, im Juni lag sie bei 67 %. W. lineata-♀♀ saugten im Oktober zu 72,8 %, im August nur zu 35 % (Abb. 2). Die Rate der Weibchen mit äußerlich nicht erkennbarer Blutmahlzeit lag stets unter 5 %. Vergleicht man alle Altersstufen von zwölf Stunden bis neun Tage, so erhält man die höchsten Fütterungsraten im Alter von vier bis sechs Tagen für B. erythrocephala bzw. von fünf bis acht Tagen für W. lineata (Abb. 4).

3.3. Insemination:

Die Besamungsrate der Freiland-♀♀ (Rinderblut- und Anflug-♀♀) betrug bei B. erythrocephala 89,5 %, bei W. lineata 98,4 %.

Die Werte schwankten in den einzelnen Monaten nur wenig. Puppen-♀♀, die im Schlüpfkäfig kopuliert hatten, waren in etwas geringerer Häufigkeit, nämlich zu 79,4 % bzw. zu 88,5 % besamt.

3.4. Mortalität während der Eireifungsphase:

Die Rinderblut-♀♀ beider Arten starben zu etwa 25 % während der Blutverdauungs- und Eireifungsphase (Abb. 5). Bei Anflug-♀♀ war die Mortalität vor allem am ersten Tag nach der Blutaufnahme deutlich höher als die der Rinderblut-♀♀ und betrug im Durchschnitt 35 % (W. lineata) bis 40 % (B. erythrocephala). Am vierten Tag nach der Blutfütterung nahm die Mortalität sowohl bei Rinderblut- als auch bei Anflug-♀♀ stets besonders stark zu.
Bei Puppen-♀♀ stieg die Mortalität gleichmäßig für B. erythrocephala auf 60 % und für W. lineata auf 45 % (Abb. 5).

3.5. Eientwicklung und Eiablage:

Die Eier waren vier bis sechs Tage nach der Blutaufnahme am Rind oder Kaninchen, in Abhängigkeit von der Haltungstemperatur der Mücken, voll entwickelt und eine Eiablage konnte durch Anfeuchten des Filterpapiers induziert werden.
Bei B. erythrocephala entwickelten Rinderblut-♀♀ im Jahresdurchschnitt 219 Eier pro Weibchen. Die durchschnittliche Eizahl schwankte von 265 Eiern im Juli bis zu 133 Eiern im Oktober (Abb. 6). Von 398 ♀♀, die die Eireifungsphase überlebten, konnten 29,4 % erfolgreich zur Eiablage stimuliert werden (Tab. 2).

Bei Anflug-♀♀, die am Kaninchen Blut aufgenommen hatten, betrug die durchschnittliche Eizahl 192 Eier pro Weibchen. Der Unterschied zu den Eizahlen der Rinderblut-♀♀ ist signifikant ($p < 0,01$). Die höchsten Eizahlen wurden im Frühjahr (April 249 Eier/♀) bis Juli (242 Eier/♀), die geringsten Eizahlen

im Oktober mit 146 Eiern pro Weibchen gezählt (Abb. 6). Von 411 die Eireifungsphase überlebenden Weibchen legten 29,0 % die Eier ab. Bei Anflug- und Rinderblut-♀♀ enthielten etwa 34 % der Mücken nach der Oviposition noch Relikteier, deren Zahl betrug im Durchschnitt aller Weibchen mit Oviposition 22 bzw. 27 Eier/♀ (Tab. 2).

Die Puppen-♀♀ entwickelten mit durchschnittlich 225 Eiern pro Weibchen signifikant mehr Eier ($p < 0,01$) als Anflug-♀♀, die ebenfalls Kaninchenblut aufgenommen hatten. Die höchsten Eizahlen brachte die Frühjahrsgeneration (April/Mai 328 Eier/♀), die geringsten Eizahlen wurden im Juni mit 175 Eiern/♀ verzeichnet (Abb. 6). Die Zahl der Weibchen, die erfolgreich zur Eiablage stimuliert werden konnten, lag mit über 51 % deutlich über der von Rinderblut- und Anflug-♀♀. Die Zahl der Retentionseier betrug im Durchschnitt 26 Eier/♀, wobei 26 % der Weibchen mit Oviposition Eier zurückhielten (Tab. 2). Der Anteil der Weibchen, die trotz einer deutlich sichtbaren Blutmahlzeit keine Eientwicklung zeigten, lag bei Rinderblut-, Anflug- und Puppen-♀♀ im Durchschnitt bei 2,3 %.

W. lineata-♀♀ entwickelten signifikant weniger Eier ($p < 0,01$) als B. erythrocephala, dies sowohl nach Blutaufnahme vom Rind als auch vom Kaninchen. Sie konnten aber durchschnittlich häufiger zur Eiablage stimuliert werden und legten in circa 10 % der Fälle sogar spontan ab, d.h. ohne Befeuchten des Substrates. Auch die Zahl der Weibchen mit Relikteiern war geringer, bei Mücken aus dem Freiland aber wieder etwas höher als bei Puppen-♀♀ (Tab. 2).

Die Rinderblut-♀♀ entwickelten durchschnittlich 138 Eier pro Weibchen. Von 201 die Eireifungsphase überlebenden Weibchen legten 61,7 % ihre Eier ab. Der Anteil Weibchen, der die Oviposition mehr als einen Tag überlebte, betrug 25,8 %. Die höchsten durchschnittlichen Eizahlen wurden im April/Mai mit 164 Eiern pro Weibchen erzielt, die geringsten im August mit 117 Eiern (Abb. 6, Tab. 2).

Die Anflug-♀♀ entwickelten mit durchschnittlich 183 Eiern pro Weibchen signifikant mehr Eier ($p < 0,01$) als die Rinderblut-♀♀. Die höchsten Eizahlen wurden im April/Mai (276 Eier/♀), die geringsten im September und Oktober (125 Eier/♀) erzielt (Abb. 6). Von 267 ♀♀, die die Eireifungsphase überlebt hatten, legten 181 ♀♀ die Eier ab, von denen danach 50 ♀♀ noch länger als einen Tag lebten.

Die Puppen-♀♀ entwickelten im Jahresdurchschnitt etwa 197 Eier pro Weibchen. Die höchste Produktivität wurde im April/Mai (236 Eier/♀), die niedrigste im August (162 Eier/♀) ermittelt. Über 57 % der Weibchen, die die Eireifungsphase überlebten, konnten zur Eiablage stimuliert werden; etwas mehr als 33 % überlebte die Eiablage länger als einen Tag (Tab. 2). Die Eizahlen der Puppen-♀♀ waren signifikant höher ($p < 0,01$) als die der Rinderblut-♀♀, der Unterschied zu den Anflug-♀♀ ist nicht signifikant. Die Zahl der Weibchen, die trotz Aufnahme einer Blutmahlzeit keine Eier entwickelte, lag in allen drei Gruppen bei etwa 6 % (Tab. 2)

3.6. Blutmenge und Eizahl:

Das Körpergewicht von W. lineata-♀♀ der Frühjahrsgeneration war am höchsten. Bei Anflug-♀♀ sank das Durchschnittsgewicht von 2,7 mg im April auf 0,9 mg im August und stieg im Oktober wieder auf 1,7 mg an. Das Gewicht der Puppen-♀♀ - einen Tag nach Schlüpfen bestimmt - sank von 4,0 mg im April auf 1,1 mg im August und stieg im September/Oktober auf 2,1 mg an. Die aufgenommene Blutmenge schwankte in den verschiedenen Versuchsmonaten stark. Die schwereren und größeren Mücken-♀♀ der Frühjahrsgeneration nahmen durchschnittlich die größte Blutmenge auf und entwickelten die höchste Anzahl Eier (Tab. 3a und 3b).
Zwischen der aufgenommenen Blutmenge und der zur vollständigen Entwicklung gebrachten Eizahl bestand eine Korrelation: Sowohl bei Anflug- als auch Puppen-♀♀, deren aufgenommene Blutmenge unter 50 %, zwischen 50 und 100 % bzw.

über 100 % des Körpergewichtes lag, entwickelten die Weibchen mit kleineren Blutmahlzeiten durchschnittlich weniger Eier (Tab. 4). Die Eizahl ist ausserdem vom Ausgangsgewicht der Mücken-♀♀ abhängig. Anflug- und Puppen-♀♀ der Frühjahrsgeneration (Mai) entwickelten mehr Eier als solche der Sommergeneration (Juni), obwohl diese im Verhältnis zum Körpergewicht im Durchschnitt zum Teil beträchtlich größere Blutmengen aufgenommen hatten.

3.7. Alterszusammensetzung der Freilandpopulation:

Die stichprobenartigen Untersuchungen zur Altersstruktur der Freilandmücken von W. lineata in den verschiedenen Versuchsmonaten - entnommen zur gleichen Zeit wie die Anflug-♀♀, die später zum Blutsaugen ans Kaninchen angesetzt wurden - ergaben für die verschiedenen Monate stark schwankende Werte. Der höchste Anteil nulliparer Mücken wurde im Mai, Juli und August nachgewiesen. In diesen Monaten lag ihr Anteil bei 92,3 %, 88,5 % bzw. 91,7 %. Im Oktober betrug das Verhältnis nulliparer zu paren Weibchen dagegen 2,5 : 1 (Abb. 7).

3.8. Retentionsrate im Freiland und Larvenentwicklung:

Zu Beginn der Abenddämmerung wurden im September an mehreren Tagen Weibchen nach dem Anflug zur Eiablage von flutenden Wasserpflanzen abgefangen und auf zurückgehaltene Eier untersucht. Von 124 so gefangen Mücken-♀♀ gehörten 80 % der Art W. lineata an. Sie enthielten im Durchschnitt 2 Retentionseier. Die restlichen Mücken waren B. erythrocephala, die ohne Ausnahme keine Retentionseier aufwiesen.

Die Zahl der aus den im Laboratorium abgelegten Eier schlüpfenden ersten Larven war bei Rinderblut-, Anflug- und Puppen-♀♀ von B. erythrocephala signifikant höher. Bei Rinderblut-♀♀ entwickelten sich 45,6 % der Eier, bei Anflug-♀♀ 41,6 % und bei Puppen-♀♀ 39,7 % zu Larven. Die vergleichbaren Zahlen von W. lineata lagen bei 14,0 %, 16,8 % bzw. 18,1 % (Tab.2). Es wurden hierfür nur Eigelege von besamten Weibchen berücksichtigt.

4. Diskussion:

4.1.Blutfütterung:

Die Weibchen von B. erythrocephala und W. lineata fliegen im Freiland die gleichen Blutwirte an (Rinder und Pferde),lassen sich im Laboratorium jedoch auch am Kaninchen erfolgreich füttern. Allerdings unterscheiden sie sich hierbei deutlich. So nimmt W. lineata, die im Feld gezielt die Ohren z.B. der Rinder anfliegt, deutlich schlechter Blut von Kaninchenohren auf als B. erythrocephala, die gewöhnlich am Bauch und Euter saugt (WENK und SCHLÖRER 1963). Auch schwankte die Saugaktivität trotz weitgehend konstanter Bedingungen sowohl in den Einzelversuchen eines Tages als auch in den verschiedenen Versuchsmonaten vor allem bei W. lineata beträchtlich.

Bei Anflug-♀♀ von W. lineata erzielte man die höchsten Saugraten mit Mücken, die fünf Minuten nach Fang angesetzt wurden. Auch Weibchen, die einen Tag später angesetzt wurden, nahmen recht häufig Blut auf; die Saugrate entsprach dem Wert, der auch für Weibchen erhalten worden war, die nach zehn Minuten angesetzt worden waren. Am zweiten und dritten Tag nach dem Fang nahm die Saugaktivität jedoch stark ab. Für W. lineata erscheint es damit sinnvoll, die Mücken-♀♀ möglichst innerhalb von fünf bis zehn Minuten nach dem Abfangen vom Rind am Kaninchen zum Blutsaugen anzusetzen, da sie dann offenbar besonders gut stimuliert sind. Durch die Haltung der Mücken im Laboratorium nimmt ihr Appetenzverhalten ab, wie dies auch von Tsetse-Fliegen bekannt ist(VALE 1974).

Die Anflug-♀♀ von B. erythrocephala dagegen, die gleich nach dem Fang vom Rind ans Kaninchenohr angesetzt wurden, saugten nicht häufiger Blut als solche, die man einen, zwei oder auch bis zu vier Tage später ans Kaninchen ansetzte. Allerdings nimmt bei manchen Simuliidenarten nur ein verhältnismäßig geringer Teil der Mücken, der im Freiland auf Rindern landet, auch wirklich Blut auf (8 % - 12 %). Die Rate blutsaugender

Weibchen variierte von Simulium (Odagmia) ornatum an verschiedenen Tagen zwischen 3,7 und 12,7 % (DAVIES 1957 b).

Der Prozentsatz der Weibchen, der am Kaninchen Blut aufnahm, ist individuell verschieden und auch von dessen Alter und Geschlecht abhängig (RÜHM 1973, GRUNEWALD und WIRTZ 1978). Gelegentlich bevorzugten unsere beiden Arten sogar die Ohren eines einzigen Kaninchens in unterschiedlicher Weise (Tab. 1). Vielleicht spielen Schwankungen der Hauttemperatur auf Grund unterschiedlicher Durchblutung der Ohren eine besondere Rolle. W. lineata saugte im allgemeinen besser an dem Ohr mit der durchschnittlich höheren, B. erythrocephala besser an dem mit der niedrigeren Hauttemperatur. Im Freiland mißt man an Rindern am Bauch und Euter ebenfalls niedrigere Hauttemperaturen als auf der Innenseite der Ohrmuscheln (vergl. Teil II).

Mit einer verbesserten Technik konnte unter Einbezug aller Fehlschläge für Puppen-♀♀ von B. erythrocephala bzw. W. lineata eine Fütterungsrate von über 75 % bzw. 48 % erzielt werden. RÜHM (1973) gibt für B. erythrocephala einen Jahresdurchschnitt von 30 bis 40 % an, GRUNEWALD und WIRTZ (1978) von 73 % bzw. für W. lineata 57 %, wobei sich diese Versuche nur auf wenige Monate erstreckten. WENK (1965) verwendete als Kaninchen "Graue Wiener" und brachte 65 % B. erythrocephala-♀♀ zum Saugen.

Auch im Laboratorium hängt die Stechaktivität von der jahreszeitlichen Population ab. Für B. erythrocephala wurden die höchsten Fütterungsraten im April / Mai und Juli / August ermittelt. W. lineata nahm im Juni bzw. Oktober am häufigsten Blut auf, niedrigste Saugraten wurden im Juli / August beobachtet (Abb. 2). Die Saugaktivität von B. erythrocephala war im Laboratorium allerdings zu allen Jahreszeiten am höchsten. Bei beiden Arten lagen die Fütterungsraten der Puppen-♀♀ um etwa 10 % über denen der entsprechenden Anflug-♀♀.

4.2. Einfluß des Alters auf das Blutsaugen von Puppen-♀♀:

Alte und junge Simuliiden-♀♀ reagieren unter den gleichen Bedingungen hinsichtlich ihres Anflug- und Blutsaugeverhaltens verschieden (DAVIES 1957 a). Auch in unseren Versuchen saugten Puppen-♀♀, die kurze Zeit nach Schlüpfen bis 9 Tage später angesetzt wurden, bei beiden Arten im Alter zwischen drei und acht Tagen am besten (Abb. 4). Die Weibchen bedürfen offensichtlich einer physiologischen Reifung, bevor sie endogen zur Blutaufnahme stimuliert sind.
Für S. ornatum war bei Fütterung durch Membranen ebenfalls eine besonders hohe Saugaktivität für etwa vier Tage alte Weibchen festgestellt worden (McMAHON 1968) und mit ein bis zwei Stunden alten S. vittatum-♀♀ wurden wesentlich schlechtere Resultate erzielt als mit drei bis fünf Tage alten Mücken (MOKRY 1976). Zwei Tage alte B. erythrocephala-♀♀ saugten zu 62 % (WENK 1965). Die Imagines können im Freiland in Abhängigkeit von der Witterung bzw. der Dichte der Blutwirte über drei Wochen hungern. Danach kommt es häufig zum Massenanflug der Mücken mit einer besonders hohen Stechaktivität, häufig mit Schadfällen (RÜHM 1981).

4.3. Eireifung:

4.3.1. Überlebensraten:

Bei beiden Arten überlebten Rinderblut-♀♀ die Eireifungsphase am besten, Anflug- und besonders Puppen-♀♀ allgemein wesentlich schlechter (Abb. 5). Die Mortalität der Anflug-♀♀ war jedoch nur am ersten Tag nach dem Saugen deutlich höher als bei Rinderblut-♀♀. Darum wird das häufigere Manipulieren und weniger das Kaninchenblut dafür verantwortlich sein. Am vierten Tag starben besonders viele der Rinderblut-♀♀ wie der Anflug-♀♀. Zu diesem Zeitpunkt war die Eireifung meist schon abgeschlossen und es könnte Legenot eingetreten sein (RUTSCHKE 1982). Eine Stimulierung zur Oviposition erscheint deshalb schon nach 2 bis 3 Tagen angebracht.

Puppen-♀♀ starben zu allen Tagen stets am häufigsten. Die

Blutqualität, eine fehlende Besamung (Besamungsrate beider Arten 80 - 90 %) sowie die Haltungsbedingungen scheiden als Ursachen aus. Eventuell sind die Puppen-♀♀ aber anfälliger gegenüber Schwankungen der Luftfeuchtigkeit oder es fehlt ihnen Nektar. Auch die Ruhelosigkeit nach dem Massenschlüpfen in den Stoffkäfigen könnte sie beeinträchtigen. Im übrigen wissen wir nichts über die Mortalität bei der Eireifung im Freiland. WENK (1965) und RÜHM (1973) erreichten mit Puppen-♀♀ von B. erythrocephala, die am Kaninchen gesaugt hatten, sogar Überlebensraten von 75 % bzw. 65 %. In unseren Versuchen überlebten die Rinderblut-♀♀ jeweils am besten (W. lineata 80 %; B. erythrocephala 75 %), die Anflug-♀♀ weniger gut (65 % bzw. 60 %) und wesentlich schlechter die Puppen-♀♀ (55 % bzw. 40 %). Hält man die Mücken einzeln in gedeckelten Styroporhöhlungen und durchströmt die Atmosphäre der Haltungsaquarien mit konstanter Luftfeuchtigkeit, so überlebten blutgefütterte W. lineata während der Blutverdauung zu 80 % (RUTSCHKE 1982).

4.3.2. Oviposition:

Bei B. erythrocephala konnten Puppen-♀♀ am häufigsten zur Eiablage stimuliert werden, stets aber schlechter als W. lineata. Im Freiland legten die Weibchen bevorzugt bei einsetzender Abenddämmerung Eier ab. Artspezifische diurne Rhythmen, Flugdistanzen, Erkennen der Brutplätze und weitere Faktoren der Eiablage sind bei Simuliiden noch wenig erforscht, spielen aber offensichtlich eine wichtige Rolle. Puppen-♀♀, die auf die Freilandbedingungen und -rhythmen weniger geprägt sind, lassen sich im Laboratorium recht gut zur Oviposition stimulieren. Allerdings legten bei W. lineata sowohl freiland- wie laborgeschlüpfte Weibchen stets zu etwa 60 % ihre Eier. Die Bedingungen waren auch hier jedoch nicht optimal: wie bei B. erythrocephala wurden bei W. lineata stets etwa 10 % der Eier im Ovar zurückgehalten. Im Freiland nach der Eiablage gefangene Weibchen beider Arten enthielten nur gelegentlich 1 bis 2 Retentionseier.

4.3.3. Alter und Natalität:

Die Zahl entwickelter Eier ist bei Simuliiden zuerst von der jahreszeitlichen Generation abhängig (RÜHM und HECHLER 1974). Wahrscheinlich bestimmen dies die Qualität und Menge der Nahrung der Larven (COLBO 1982). Die potentielle Natalität (Anzahl Ovariolen pro Weibchen) ist demnach physiologisch vorgegeben und spiegelt sich auch in unseren Versuchen wider. Puppen-♀♀ der Frühjahrs- und Herbstgeneration entwickelten mehr Eier als die der Sommergeneration.

Weiter nimmt die reale Natalität (Anzahl voll ausgebildeter Eier pro Weibchen) mit steigendem physiologischem Alter bzw. Zunahme der Anzahl der gonotrophischen Zyklen ab (RÜHM und HECHLER 1974).

Bei Rinderblut-♀♀ und Anflug-♀♀, die am Kaninchen gefüttert wurden, besteht das gleiche Verhältnis von paren zu nulliparen Mücken, da sie miteinander an Rindern abgefangen wurden. Als Freilandmücken sind sie durchschnittlich etwas älter als Puppen-♀♀ (vergl. Abb. 7).

Das Alter der Puppen-♀♀ ist experimentell wählbar und man weiß, daß sie nullipar sind. Sie entwickelten - junge Mücken allgemein - bei beiden Arten stets am meisten Eier. Rinderblut- und Anflug-♀♀ wiesen dagegen im Herbst, entsprechend ihres durchschnittlich höheren Alters, die geringsten Eizahlen auf.

4.3.4. Blutmenge, Blutqualität und Natalität:

Bei den meisten blutsaugenden Insekten ist die Eizahl von der aufgenommenen Blutmenge abhängig (ROY 1936, WIGGLESWORTH 1960, KLOWDEN and LEA 1979). Dies trifft auch für W. lineata zu (für B. erythrocephala wurde es nicht untersucht). Anflug-♀♀ nahmen am Kaninchenohr durchschnittlich größere Blutvolumina auf als am Rind und entwickelten schon darum entsprechend mehr Eier pro Gelege (Tab. 3 a). Wahrscheinlich werden Rinderblut-♀♀ häufig während des Saugens gestört und bereits abgefangen, bevor sie ihre maximale Blutmenge aufnehmen konnten.

Daher muß die reale Natalität für W. lineata in Abhängigkeit von der Blutmenge berechnet werden. Rinderblut-♀♀ entwickelten von Mai bis September bei Volumina von durchschnittlich 1,1 mg Blut 135 Eier/♀. Anflug-♀♀ nahmen durchschnittlich 1,3 mg Blut auf, was theoretisch 160 Eier/♀ ergäbe. Dies stimmt mit der gefundenen Zahl von 165 Eiern/♀ gut überein. Somit muß Kaninchenblut für W. lineata dem des Rindes gleichwertig sein.

Bei B. erythrocephala hatten Rinderblut-♀♀ mit 219 Eier/♀ signifikant mehr Eier als Anflug-♀♀ (192 Eier/♀). Hier könnte das Rinderblut dem des Kaninchens überlegen gewesen sein. Die Eizahl pro mg Blut wurde hier nicht untersucht. Eine Parallele fände sich bei Culex pipiens (Culicidae), die nach Aufnahme von Menschenblut weniger Eier entwickelt als nach Aufnahme gleicher Blutmengen vom Kanarienvogel (WOKE 1937).

4.3.5. Embryonalentwicklung der Larven:

Die Zahl erster Larven, die aus den Eiern schlüpften, war im Laboratorium bei B. erythrocephala mit 42 % deutlich höher als bei W. lineata mit 16 %. Letztere legen im Freiland submers vor allem auf die Unterseite flottierender Blätter und die Eier sind deshalb vielleicht besonders empfindlich gegenüber Trockenfallen.

Ein Unterschied in den Entwicklungsraten der Rinderblut-, Anflug- oder Puppen-Eier bestand nicht. Bei Massenhaltung in 1 l Bechergläsern im Dunkeln entwickeln sich bei B. erythrocephala offenbar über 80 % (WENK 1965). Die Zwielicht-Methode (SIMMONS and EDMAN 1981) könnte möglicherweise nicht nur zur Oviposition anregen (BOAKYE and RAYBOULD, in Vorbereitung), sondern auch die Entwicklungsrate der Embryonen verbessern. Offensichtlich werden nicht alle Eier beim Passieren der Vagina besamt: Man sieht einzelne Eier, die alsbald dunkeln und Augenflecken entwickeln, zwischen weiß gebliebenen,

aus denen später keine Larven schlüpfen.

4.4. Produktionsmodell:

Bei empirisch ohne technische Schwierigkeiten züchtbaren Blutsaugern wie Culiciden, Ceratopogoniden und Reduviiden, werden naturgemäß keine Produktionsberechnungen angestellt. Bei geringer Natalität, wie sie z.B. bei Tsetse-Fliegen mit 10 - 12 Nachkommen pro Weibchen vorliegt oder bei großen Verlusten während der Larvenzucht in strömendem Wasser und spezifischen hydrochemischen Ansprüchen, wie bei Simuliiden, kommt man nicht ohne eine solche Bilanz aus. Erst wenn die Verlustraten aller Schritte bekannt sind, läßt sich feststellen, wo Verbesserungen nötig bzw. möglich sind und wie stark diese ins Gewicht fallen. Die Natalität als einziger Vermehrungsfaktor muß alle Verluste wieder wettmachen.

Für eine Laboratoriumszucht würde man mit Vorteil von Puppen-♀♀ ausgehen und ihre Erfolgsquote läßt sich anhand unserer Daten für B. erythrocephala und W. lineata wie folgt vorausberechnen. Es sollen betragen: Die Insemination der Weibchen 79 % bzw. 89 %, die Fütterungsraten 80 % bzw. 50 %, die Überlebensraten nach dem Blutsaugen 40 % für B. erythrocephala bzw. 55 % für W. lineata. Von diesen zeigen 96 % bzw. 94 % einen gonotrophischen Zyklus, legen zu 50 % bzw. 60 % Eier ab, wobei die Natalität 225 bzw. 197 Eier/♀ betrage.
Bei einer Embryonalentwicklung der Eier bis zum ersten Larvenstadium von 40 % bzw. 20 %, erhält man für B. erythrocephala einen Vermehrungsfaktor von 11,4 , für W. lineata von 4,0.

Da ein Drittel der Weibchen, die einmal zur Eiablage stimuliert werden konnten, danach mehr als einen Tag überlebte und zu einem gewissen Prozentsatz zu einem zweiten gonotrophischen Zyklus gebracht werden könnte, darf man eventuell von noch etwas höheren Vermehrungsfaktoren ausgehen. Dies käme vor allem der Zucht von W. lineata zugute.

Wegen der speziellen Lebensbedingungen der Larven hängt von deren Verlustrate letztlich ab, welcher Vermehrungsfaktor für eine bestimmte Art zu fordern ist, um eine Laboratoriumskolonie aufzubauen. GRUNEWALD (1973) konnte die ersten Larven von B. erythrocephala mit bis zu 44 % Erfolg ins Imaginalstadium bringen, was bei einem Geschlechterverhältnis von 1:1 einem Multiplikationsfaktor von 2,5 pro Generation bei den vorliegenden Resultaten entspricht. Bei W. lineata käme man auf knapp 1 pro Generation, was bei geringen technisch bedingten Schwankungen zum Erlöschen der Kolonie führen kann und beispielsweise durch Selektion verbessert werden müßte.

5. Zusammenfassung:

Die Weibchen von B. erythrocephala und W. lineata fallen im Freiland bevorzugt Rinder und Pferde an. Füttert man sie experimentell am Kaninchen, so nehmen sie in unterschiedlichen Raten Blut auf und ihre Überlebensrate während der Eireifungsphase, ihre Natalität (Eizahl/♀) und die Zahl der sich zu Larven entwickelnden Eier weichen deutlich voneinander ab.

Anflug-♀♀ von B. erythrocephala nahmen in der Sommersaison relativ konstant zu 74 % Blut auf, wobei man sie nach dem Fang bis zur Blutfütterung ein bis vier Tage halten konnte, ohne ihre Bereitschaft zum Blutsaugen zu beeinträchtigen.

Bei Puppen-♀♀ war die Saugaktivität mit durchschnittlich 78 % etwas höher. Mit vier bis sechs Tage alten Mücken erzielte man die höchsten Fütterungsraten verglichen mit jüngeren und älteren Mücken.

Die Blutverdauung und Eireifung überlebten bei Anflug-♀♀ 60 %, bei Puppen-♀♀ 40 % der gefütterten Mücken. Bei den vom Rind als Kontrolle abgefangenen Weibchen (Rinderblut-♀♀) waren es 74 %. Von den Anflug- und Rinderblut-♀♀ konnten 29 % zur Oviposition in vitro stimuliert werden, bei den Puppen-♀♀ waren es über 51 %.

Die Natalität von Rinderblut-♀♀ (219 Eier/♀) und Puppen-♀♀ mit Kaninchenblut (225 Eier/♀) war signifikant höher als die der ebenfalls am Kaninchen gefütterten Anflug-♀♀ (192 Eier/♀). Aus den abgelegten Eiern entwickelten sich zu 42 % erste Larven. Die Zahl der Weibchen, die trotz Aufnahme einer deutlich sichtbaren Blutmahlzeit keinen gonotrophischen Zyklus durchliefen, lag in allen drei Gruppen bei etwa 4 %.

Bei W. lineata lagen die durchschnittlichen Fütterungsraten der Anflug-♀♀ bei etwa 40 %. Die Saugraten schwankten während der Saison deutlich und waren im September und Oktober am höchsten. Hält man die Tiere vor dem Füttern 1 - 4 Tage im Laboratorium, so nimmt die Saugaktivität deutlich ab.

Die Puppen-♀♀ saugten am Kaninchen zu 48 %. Die höchsten Fütterungsraten wurden im Alter von 5 - 8 Tagen erreicht, jedoch überlebten nur 55 % der Weibchen mit Blut die Eireifungsphase von 4 Tagen, bei den Anflug- und Rinderblut-♀♀ dagegen waren es 67 % bzw. 78 %. Die überlebenden Weibchen konnten in allen drei Gruppen zu etwa 60 % zur Eiablage stimuliert werden.

Am Kaninchen gefütterte Anflug- und Puppen-♀♀ entwickelten signifikant mehr Eier (183 bzw. 197 Eier/♀) als Rinderblut-♀♀ (138 Eier/♀). Die Zahl sich zu Larven entwickelnder Eier betrug im Durchschnitt nur 16 %. Der Anteil der Weibchen, die trotz Blutmahlzeit keinen gonotrophischen Zyklus durchliefen, lag in allen Gruppen bei etwa 6 %.

Die potentielle Natalität von B. erythrocephala und W. lineata war bei Puppen-♀♀ allgemein, d.h. unabhängig von der Menge des aufgenommenen Blutes, bei der Frühjahrsgeneration am höchsten, bei der Sommergeneration am niedrigsten, bei der Herbstgeneration wieder höher. Die reale Natalität von W. lineata stieg jedoch bei Anflug- wie Puppen-♀♀ bei einer Blutaufnahme von weniger als 50 %, bzw. 50 - 100 % und mehr als 100 % des Körpergewichtes stufenweise signifikant an.

Geht man von Puppen-♀♀ aus, die man am Kaninchen saugen läßt, so wird mit unserem Verfahren bei der Zucht von der Imago bis zum ersten Larvenstadium bei B. erythrocephala ein Produktionsfaktor von 11,4 , bei W. lineata von 4,0 erreicht. Bei 44 % Zuchterfolg der Larven zu Imagines ergibt dies bei einem Geschlechterverhältnis von 1:1 Vermehrungsfaktoren von 2,5 bzw. 0,9 pro Generation. Demnach kann B. erythrocephala mit Blutfütterung am Kaninchen mit ausreichendem Erfolg zur Vermehrung gebracht werden, wobei die Embryogenese der Eier mit 42 % den Engpaß bildet wie auch bei W. lineata mit 16 %.

H.P. Wirtz: Nutrition and Reproduction in Palaearctic and African Blackflies (Simuliidae: Diptera) I. Bloodfeeding of Boophthora erythrocephala De Geer and Wilhelmia lineata Meigen on Rabbits. Thesis for Dr. rer. nat. in Biology, Tuebingen.

Abstract:

Females of the mammalophilic species, B. erythrocephala and W. lineata, feed on cattle and horses in the field. When fed on the rabbit's ear under laboratory conditions, they differ considerably in bloodsucking activity, in mortality during digestion of blood, natality, and hatching rates of first instar larvae.

In B. erythrocephala wild-caught-♀♀ fed in 74 % without seasonal variation. When females were kept up to four days before feeding their bloodsucking activity did not decrease.
Laboratory-emerged-♀♀ usually fed in even higher rates (78 %), and four to six days old flies fed more frequently than younger or older females. Survival rates during maturation of eggs in four days were 60 % in wild-caught-♀♀, 40 % in laboratory-emerged-♀♀, and 74 % in cattle-fed-♀♀. Only 29 % of the wild-caught and the cattle-fed-♀♀ but 50 % of the laboratory-emerged flies could be induced to lay eggs on wet substrate.
The natalities of cattle-fed flies (219 eggs/♀) and laboratory-emerged flies fed on the rabbit (225 eggs/♀), were significantly higher than in wild-caught rabbit-fed-♀♀ (191 eggs/♀). The number of eggs developing to first instar larvae generally was low (42 %). After a blood meal the percentage of flies without maturing oocytes was consistently 3.6 %.

In W. lineata wild-caught-♀♀ fed less successfully (40 %) and showed considerable seasonal variation. The best results were obtained in September and October. Keeping them in the laboratory for one to four days reduced the bloodsucking activity.
In laboratory-emerged-♀♀ the best feeding results (48 %) were obtained with four- to eight-day old flies but their survival during maturation of eggs remained low (55 %). It was higher with wild-caught (67 %) and cattle-fed-♀♀ (78 %). In all cases 60 % of them could be induced to oviposit. The rabbit-fed wild-caught or laboratory-emerged flies produced significantly more eggs (183 resp. 197 eggs/♀) than cattle-fed ones (138 eggs/♀). Most egg batches contained only 16 % fertilized eggs. About 6.1 % of the flies with a blood meal showed no maturation of oocytes.
In laboratory-emerged-♀♀ of B. erythrocephala and W. lineata the potential natality was highest in spring, lowest in summer and increased again in autumn. The number of eggs/♀ was affected by the blood volume: in laboratory-emerged and wild-caught flies of W. lineata the natality mounted gradually with blood meals increasing from less than 50 % to more than 100 % of their body weight.

Starting with laboratory-emerged flies fed on the rabbit a production factor of 6.5 is calculated for B. erythrocephala and of 2.9 for W. lineata rearing from the imago to the first instar larva with our methods. When the larvae are reared to adults with 44 % efficiency a reproduction of 2.9 resp. 1.3 per generation results.

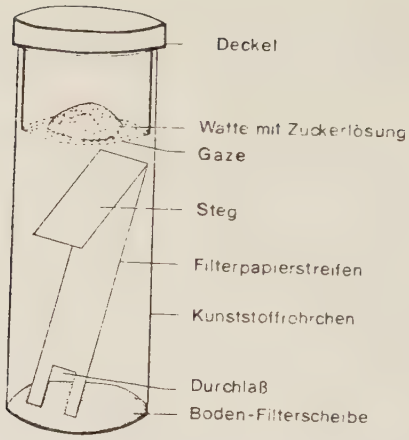


Abb. 1: Haltungsröhrchen zur Einzelhaltung der Simuliiden-♀♀

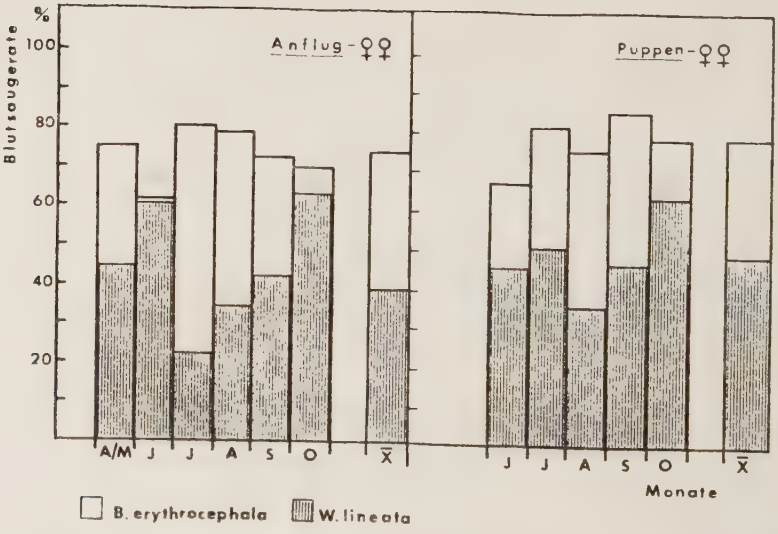


Abb. 2: Blutsaugeraten der Anflug- und Puppen-♀♀ von B. erythrocephala und W. lineata beim Saugen am Kaninchenohr in den verschiedenen Versuchsmonaten und im Durchschnitt der Versuche ($\bar{x}$).

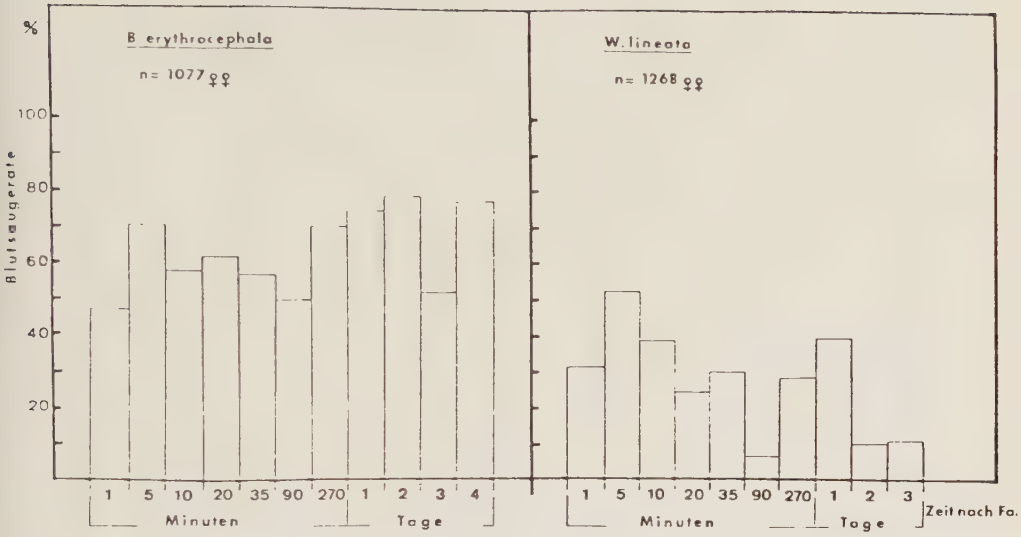


Abb. 3: Blutsaugeraten der Anflug-♀♀ von B. erythrocephala und W. lineata angesetzt zu verschiedenen Zeiten nach Fang vom Rind am Kaninchenohr.

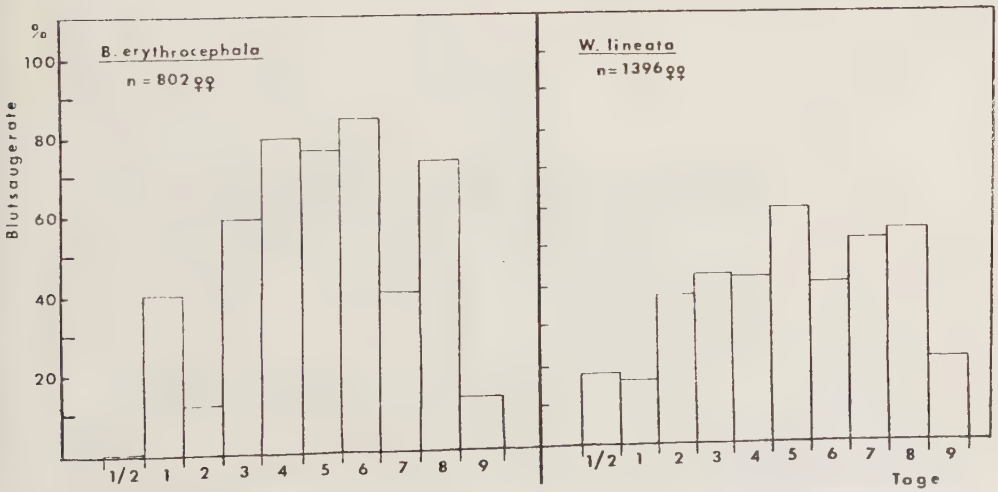


Abb. 4: Blutsaugeraten der Puppen-♀♀ von B. erythrocephala und W. lineata in Abhängigkeit vom Alter der Mücken.

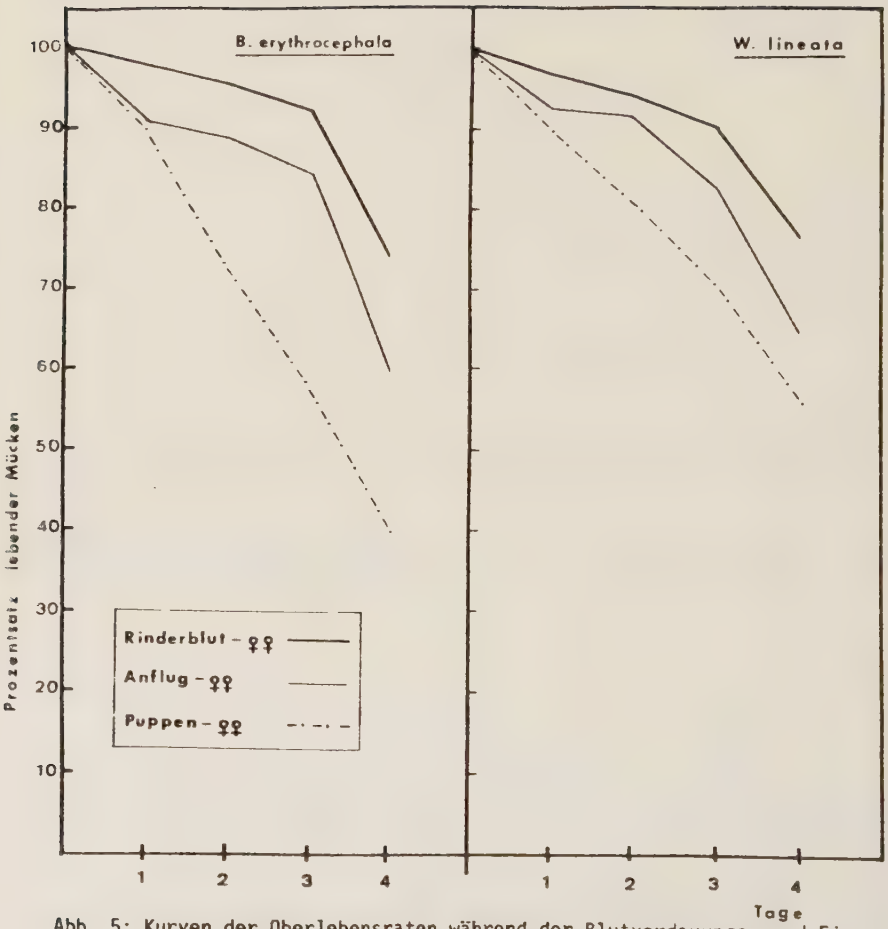


Abb. 5: Kurven der Oberlebensraten während der Blutverdauungs- und Eireifungsphase von B. erythrocephala und W. lineata im Laboratorium.

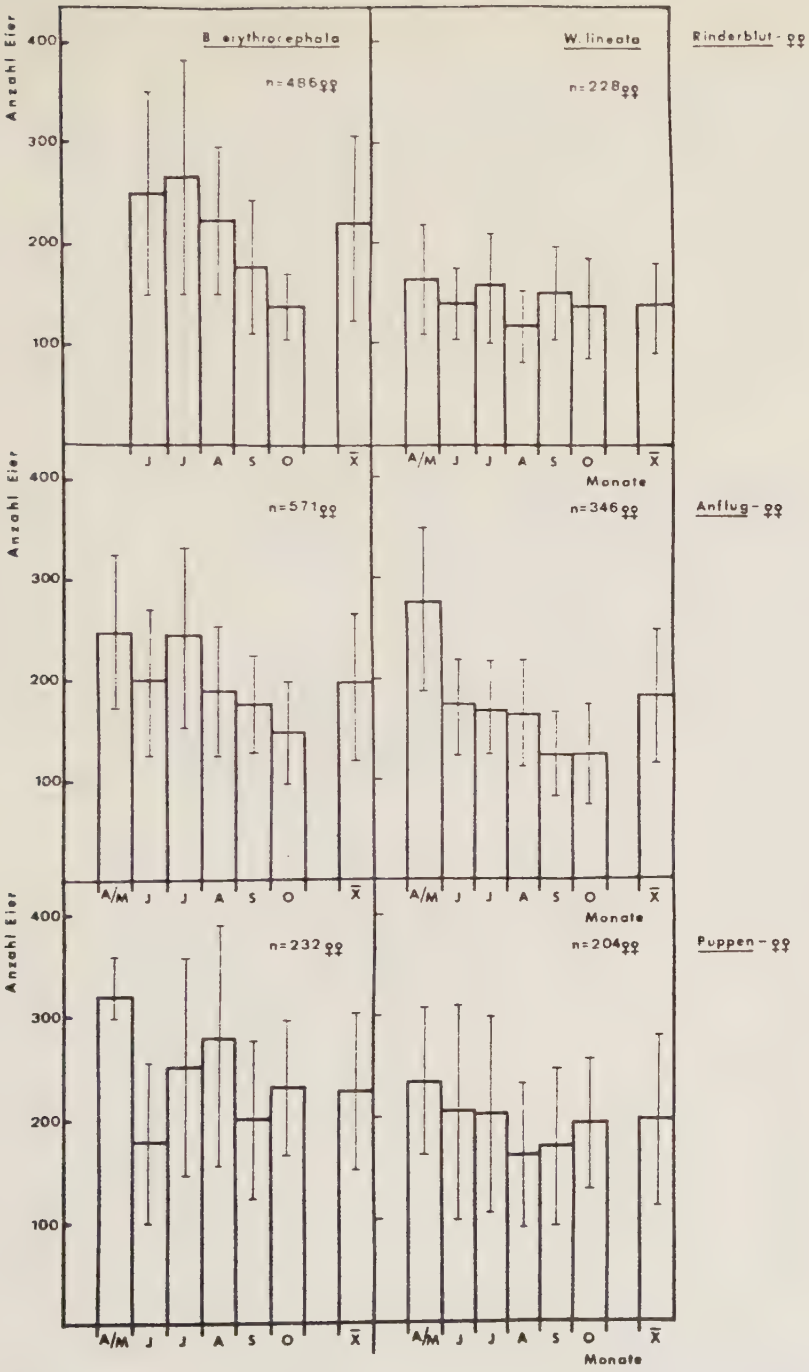


Abb. 6: Durchschnittliche Eizahl (Natalität) mit Standardabweichung der Rinderblut-, Anflug- und Puppen-♀♀ von B. erythrocephala und W. lineata in den verschiedenen Versuchsmonaten.

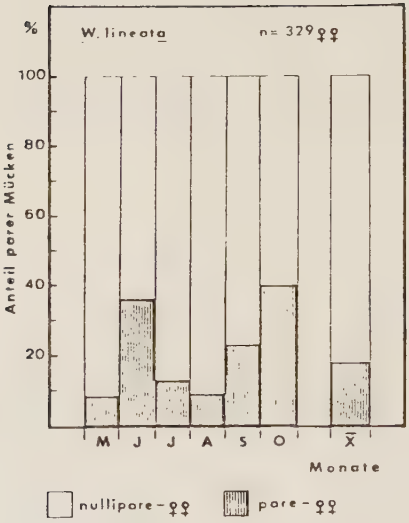


Abb. 7: Altersstruktur der Anflug-♀♀ von W. lineata beim Anflug an Rinder in den verschiedenen Versuchsmonaten. Anteil parer Weibchen und Durchschnitt ($\bar{x}$).

Ohr (Temperatur)	B. erythrocephala-♀♀ ges./total	% ges.	n	W. lineata-♀♀ ges./total	% ges.	n
rechts (34,9 °C)	192 / 257	74,7	26	78 / 110	70,9	11
links (35,4 °C)	178 / 277	64,3	29	93 / 112	83,0	11
Irrtums-wahrschein-lichkeit	P < 0,01			P< 0,01		

Tabelle 1: Fütterungsraten der Anflug-♀♀ von B. erythrocephala und W. lineata an den beiden Ohren eines braunen Kaninchen-♀. n = Anzahl der Versuche

Material	Eientwicklung ♀♀ neg./total	Oviposition ♀♀ stim/♀♀	Natalität Eier/♀♀	Retention Eier/♀♀	Embryogenese %
B. erythrocephala					
Rinderblut-♀♀	3 / 401	117 / 398	219 ± 93	27	
%	0,8	29,4		35,9	45,6
Anflug-♀♀ Kaninchenblut	10 / 421	118 / 411	192 ± 75	22	
%	2,4	28,7		32,2	41,6
Puppen-♀♀ Kaninchenblut	10 / 193	94 / 183	225 ± 76	26	
	5,2	51,4		25,5	39,7
W. lineata					
Rinderblut-♀♀	15 / 216	124 / 201	138 ± 44	8	
%	6,9	61,7		24,2	14,0
Anflug-♀♀ Kaninchenblut	15 / 282	181 / 267	183 ± 68	10	
%	5,3	67,8		23,2	16,8
Puppen-♀♀ Kaninchenblut	12 / 222	120 / 210	197 ± 87	17	
%	5,4	57,1		21,7	18,1

Tabelle 2: Eientwicklung, Oviposition, Natalität, Zahl durchschnittlich zurückgehaltener Relikteier bzw. Prozentsatz der Weibchen mit Relikteiern sowie Anteil sich zu Larven entwickelnder Eier bei Rinderblut-, Anflug- und Puppen-♀♀ von B. erythrocephala und W. lineata. Eizahlen: Arithmetisches Mittel mit Standard-abweichung.

Monat	Anflug-♀♀ Gewicht vor Blutaufnahme (mg) $\bar{x} \pm s_D$	Anflug-♀♀ / Kaninchenblut Gewicht nach Blutaufnahme (mg) $\bar{x} \pm s_D$	Natalität Eier/♀ $\bar{x} \pm s_D$	Rinderblut-♀♀ Gewicht nach Blutaufnahme (mg) $\bar{x} \pm s_D$	Natalität Eier/♀ $\bar{x} \pm s_D$
Mai	2,1 ± 0,3	4,3 ± 1,0	218 ± 83	3,1 ± 0,7	149 ± 38
Juni	1,8 ± 0,4	3,7 ± 0,8	173 ± 48	3,4 ± 0,7	128 ± 44
Juli	1,9 ± 0,5	3,5 ± 0,7	175 ± 42	2,9 ± 0,6	134,3 ± 52
August	1,9 ± 0,6	2,3 ± 0,1	149 ± 15	3,3	238
September	1,4 ± 0,7	1,9 ± 0,6	104 ± 61	3,0 ± 1,0	133,0 ± 60
$\bar{x}$	2,0 ± 0,4	3,3 ± 0,1	165 ± 58	3,1 ± 0,9	135 ± 53

Tabelle 3a: Arithmetisches Mittel der Körpergewichte vor und nach der Blutaufnahme sowie die durchschnittlichen Eizahlen für W. lineata Rinderblut-♀♀ sowie Anflug-♀♀, die Kaninchenblut aufgenommen hatten.

Monat	Gewicht vor Blutsaugen (mg) $\bar{x} \pm s_D$	Blutaufnahme (mg) $\bar{x} \pm s_D$	Natalität Eier/♀ $\bar{x} \pm s_D$
Februar/April	4,0 ± 0,9	2,8 ± 1,0	283 ± 103
Mai	2,3 ± 0,3	2,0 ± 0,8	210 ± 35
Juni	1,9 ± 0,3	2,2 ± 0,5	146 ± 48
Juli	1,2 ± 0,2	0,9 ± 0,5	103 ± 83
August	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,7	81 ± 91
September	2,1 ± 0,4	1,3 ± 0,7	132 ± 53
$\bar{x}$	2,1 ± 1,1	1,7 ± 0,8	

Tabelle 3b: Arithmetisches Mittel mit Standardabweichung ($\bar{x} \pm s_D$) des Körpergewichtes, des Blutgewichtes und der durchschnittlichen Eizahl der Puppen-♀♀ von W. lineata nach Aufnahme von Kaninchenblut.

	< 50 % K.G. $\bar{x} \pm s_D$	50 - 100 % K.G. $\bar{x} \pm s_D$	> 100 % K.G. $\bar{x} \pm s_D$
Anflug-♀♀	136 ± 76	220 ± 81	229 ± 79
Kaninchenblut	n = 24	n = 52	n = 65
Puppen-♀♀	46 ± 54	160 ± 78	217 ± 116
Kaninchenblut	n = 12	n = 31	n = 17

Tabelle 4: Durchschnittliche Eizahl mit Standardabweichung ($\bar{x} \pm s_D$) in Abhängigkeit von der aufgenommenen Blutmenge bei W. lineata. K.G. = Körpergewicht der ♀♀ vor der Blutmahlzeit. n = Anzahl der ♀♀.

II. Blutfütterung von Boophthora erythrocephala De Geer und Wilhelmia lineata Meigen durch Membranen

1. Einleitung:

Die Onchozerkose des Menschen führt vor allem in West Afrika häufig zur Erblindung und man betrachtet sie deshalb als entscheidendes Hindernis für eine Verbesserung der sozialen und ökonomischen Lage der einheimischen Bevölkerung. Der Erreger, die Filarie Onchocerca volvulus , parasitiert ausschließlich im Menschen. Er wird von Simulium damnosum s.l. übertragen, einem Artenkomplex, dessen Biologie nur aus Freilanduntersuchungen bekannt ist, da die Mücke selbst bis jetzt im Laboratorium in einer sich selbst erhaltenden Kolonie nicht züchtbar ist. Alle für die Epidemiologie wichtigen Tatsachen der Entwicklung des Parasiten,vor allem ihre Variation in einzelne zytotaxonomische Typen des Artenkomplexes,müssen an Wildfängen festgestellt werden.
Kolonien von S. damnosum s.l. und anderen palaearktischen Arten ließen sich bis heute nur in begrenztem Umfang aufbauen (GRUNEWALD 1973, SIMMONS and EDMAN 1978, 1981, 1982, RAYBOULD, pers. Mitteilung). Lediglich die vom Blutsaugen unabhängige d.h. autogene S. decorum wird seit mehreren Generationen im Laboratorium gehalten (BRENNER et al. 1980). Anautogene Simuliiden müssen in jedem gonotrophischen Zyklus zur Eientwicklung Blut aufnehmen und wurden dazu meist an Säugetieren gefüttert (WENK 1965, McMAHON and NELSON 1968, RÜHM 1973), deren Variabilität jedoch häufig zu Mißerfolgen bei der Fütterung führt (GRUNEWALD und WIRTZ 1978).

Eine in vitro-Technik hat im Hinblick auf eine Standardisierung der Haltungs- und Zuchtbedingungen daher entscheidende Vorteile (KLUNKER 1979). Die palaearktischen Simuliiden

Boophthora erythrocephala und Wilhelmia lineata nahmen zu 33 % bis 80 % bzw. 22 % bis 55 % Blut durch Membranen auf und zwar in Abhängigkeit von der verwendeten Membran und Blutsorte (GRUNEWALD und WIRTZ 1978, WIRTZ und GRUNEWALD 1981). Die Erfolgsraten lagen für andere Arten und bei Verwendung unterschiedlicher Techniken, Membranen und Blutsorten meist unter 50 % (McMAHON 1968, SUTCLIFFE and McIVER 1975, MCKRY 1976). Die Membranherkunft und -stärke, die Futterlösung, häufig ein zusätzlicher olfaktorischer Stimulus sowie ein Wärmereiz sind neben dem Alter und Hungerzustand der Mücken besonders wichtig (TARSHIS 1958, MARGALIT and GALUN 1972).

Mit den folgenden Untersuchungen sollte die Technik der Blutfütterung durch künstliche Membranen so verbessert werden, daß eine Haltung von obligat anautogenen Simuliiden unabhängig von Wirtstieren möglich wird. Erfolgskriterien sind hierbei neben der Aufnahme von Blut durch einen hohen Prozentsatz der angesetzten Mücken vor allem die Überlebensrate während der Eireifung, die reale Natalität (Eizahl pro Weibchen) sowie die Größe der Blutmahlzeit.

Mechanikermeister Herr H. Renner stellte die Apparatur zur Blutfütterung her und ging auf alle Änderungswünsche stets bereitwillig ein. Blut und Membranen erhielt ich von den Herren Dr. habil. H. Wetzel und Dr. D. Luger von der International Atomic Energy Agency, Wien, und Frau Schneit und Frau Seitz von der Chirurgischen Klinik Tübingen. Herr Dr. W. Schumann (Institut für Organische Chemie) half bei den Versuchen zur Membrancharakterisierung, Herr Dr. G. Deichsel und Dr. K. Wittkowski (Institut für medizinische Biometrie) bei der statistischen Auswertung. Allen sage ich meinen herzlichen Dank.

2. Material und Methodik:

2.1. Mückenmaterial:

Die ausschließlich verwendeten nulliparen Weibchen von B. erythrocephala und W. lineata schlüpften aus Puppen, die aus Brutplätzen in der Nähe von Kehl/Oberrhein stammten. Wasserpflanzen mit den an ihnen haftenden Puppen wurden in Kühlbehältern ins Laboratorium gebracht und dort in schwarzen Stoffkäfigen mit einem dreieckigen Gazefenster (WENK and RAYBOULD 1972) ausgebreitet. Bei einer Raumtemperatur von 18° C schlüpften innerhalb von 1 bis 7 Tagen Hunderte von Mücken beiderlei Geschlechtes, die alsbald kopulierten. Nach einem Tag wurden sie zu den Blutsaugeversuchen angesetzt. Länger verbleibenden Mücken wurde täglich eine 2 % Zuckerlösung angeboten, jedoch 24 Stunden vor Versuchsbeginn entfernt, um die Saugaktivität der Mücken nicht zu beeinträchtigen (WENK 1965).

2.2. Saugapparatur:

Die früher bereits verwendete Apparatur (GRUNEWALD und WIRTZ 1978) wurde wenig modifiziert und auf 6 Kammern erweitert. Die Membran, aufgezogen auf einen abschraubbaren Stahlring, schließt eine flache Kammer mit Blut nach unten ab. Ein Rührflügel gleitet innen dicht über die Membran und verhindert die Sedimentation von Erythrozyten und gegebenenfalls von Mikrofilarien. Von oben schließt sich eine zweite, größere Kammer an, die von temperiertem Wasser durchströmt wird. Die Mücken werden in einem zylindrischen Käfig von unten an die Membran (12,6 cm^2) gebracht (Abb. 1). Die Blut- und Heizkammer besteht aus V2-Stahl, um sie sterilisieren zu können.
Die Membran wird zunächst auf den Stahlring (Durchmesser 43 mm) aufgezogen und ihre Dicke mit einem Präzisionsmeßgerät gemessen (Oditest Schnelltaster-T, Kroeplin GmbH, Schlüchtern). Da die Blutkammern gesäubert werden können, ohne die Membran

von den Ringen abnehmen zu müssen, kann dieselbe Membran wiederholt über viele Versuche benutzt werden. Das Temperaturgefälle zwischen Blutkammer 1 bis 6 betrug 0,1° bis 0,2° C. Bei laufenden Versuchen wurden die Membran- und Raumtemperatur (Temperaturmeßgerät Technoterm 9500, Testoterm KG, Lenzkirch) und die Raumfeuchtigkeit festgehalten. Die Helligkeit unter der Membran betrug 2600 Lux, die Membrantemperatur 34,5° C, sofern nicht anders angegeben.

2.3. Membranen:

Die käuflichen Membranen bestanden aus Latex-Kondomgummi (Sheik-regular-prophylactics, Julius Schmid of Canada LTD; Dicke 0,06 mm) bzw. tierischen Eingeweiden (Baudruche Transparent Membrane, Long and Long Co., Belleville, New Jersey, USA; Dicke 0,02 mm). Die synthetische Silikon-Membran, die zur Fütterung von Tsetse-Fliegen entwickelt worden war (BAUER and WETZEL 1976), wurde für Simuliiden auf eine Dicke von 0,08 - 0,2 mm ausgerollt, wobei auf das bei Tsetse übliche Stützgewebe verzichtet werden konnte. Einzelheiten der Herstellung und ihre Bedeutung wurden bereits berichtet (WETZEL 1979 a, WIRTZ und GRUNEWALD 1981). Frisch hergestellte Silikon-Membranen wurden vor dem Erstgebrauch mindestens 10 Minuten in Wasser ausgekocht und wie Latex- und Baudruche-Membranen in destilliertem Wasser gelagert.

2.4. Membranspannung:

Zunächst wurde die Membran ohne Spannung aber faltenfrei auf den Stahlring aufgezogen (Nullspannung). Sodann legte man eine gleich große Plexiglasscheibe auf. Diese besitzt zentral zwei kreuzförmig angeordnete Schlitze von je 10 mm Länge und 2 mm Breite (Abb. 2), durch die mit einem wasserunlöslichen Stift ein Markerkreuz auf die Membran aufgezeichnet wurde. Eine höhere Spannung der Membranen läßt sich an der Ausdehnung des Kreuzes messen, die symmetrisch

bleiben muß. Silikon- und Latex-Membranen wurden nach Strecken der Markierung um 1 mm (Spannung 1), 2,5 mm (Spannung 2) oder 4 mm (Spannung 3 = Reißgrenze) getestet.

2.5. Physikalische Charakterisierung der Membran:

Die Durchlässigkeit der Latex- und Silikon-Membranen wurde in einem modifizierten Saug/Druck-Filtrationsgerät aus Edelstahl bestimmt. In diesem konnten die Stahlringe mit aufgespannter Membran definierter Spannung verwendet werden. Bei einem Unterdruck von 10^{-2} bar wurde das zu messende Filtrat (Wasser, Blut) über einer Stickstoff-Kältefalle ausgefroren und ausgewogen.
Um die Porengröße zu meßen, wurde eine Ultrafiltrationszelle mit Rührwerk (SCHUMANN 1982) sowie das bereits beschriebene Saug/Druck-Filtrationsgerät verwendet. Die Porengrößen von Latex- und Silikon-Membranen wurden mittels einer 1 % Cytochrom C- (Serva, M.G. 12300) bzw. Dextranblau-Lösung (M.G. 2×10^6) bei einem Druck von 2 bar geprüft. Die Membranfläche betrug in der Ultrafiltrationszelle 35 cm^2, ein Spannen der Membranen war hier nicht möglich.
Die Elastizität und Durchstechbarkeit der Membranen wurde in einem Meßvorgang mit einer Insektennadel (Diamant Nr. 2) bestimmt ,indem die aufgewendete Kraft als Gewicht in der Membranmitte gemessen wurde.

2.6. Blutarten:

Folgende 10 Blutarten (Nr. 1-8 vom Menschen) wurden angeboten: 1) Blutkonserve frisch, pH 6,8 2) tiefgefroren, pH 7,0 und 3) lyophilisiert, pH 6,9 jeweils mit ACD-Adenin-Antikoagulans 4) Citratblut frisch (Venenblut mit 3,8 % Natriumcitrat 2:10), pH 7,6 5) tiefgefroren, pH 7,6 und 6) lyophilisiert, pH 8,5 7) Venenblut ohne Zusätze, dem ein Großteil des Serums entzogen worden war (Blutkuchen), pH 7,6 sowie 8) tiefgefroren pH 7,9. An tierischen Blutsorten wurden verwendet: 1) lyophilisiertes, defibriniertes Rinderblut, pH 8,7

(WETZEL and LUGER 1978) und 2) lyophilisiertes, defibriniertes Schweineblut, pH 8,4 (WETZEL and LUGER 1978). Gegebenenfalls wurde eine Adenosin-5'-triphosphat-Lösung (ATP) in Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-1} mol, pH 7,7 dazu gegeben (GALUN and MARGALIT 1969, SUTCLIFFE and McIVER 1976, MOKRY 1976).

2.7. Fütterung und Haltung der Mücken:

Pro Versuch wurden durchschnittlich jeweils etwa 10 Mücken-♀♀ mit einem Exhaustor in die Kammern eingeblasen und dort 30 bis 60 Minuten belassen. An der Fütterkammerwand ruhende Mücken konnten durch Beblasen mit Atemluft aktiviert werden (GILLIES 1980). Die effektive Saugzeit der Weibchen lag zwischen 3 und 10 Minuten. Mücken, die Blut aufgenommen hatten, wurden in der oben beschriebenen Weise (vergl. Teil I) gehalten und nach 4 Tagen durch Anfeuchten des Filterpapiers in den Haltungsröhrchen zur Eiablage stimuliert. Nach erfolgter Oviposition wurden alle Weibchen, auch diejenigen, welche während der Eireifungsphase eingegangen waren, auf die Art hin bestimmt sowie auf Relikteier im Ovar bzw. Samen im Receptaculum seminis untersucht. Die aufgenommene Blutmenge wurde als Differenz vor und nach der Blutfütterung auf einer Analysenwaage (Sartorius 2001 MP2) ermittelt und die entwickelten Eier ausgezählt (reale Natalität).

2.8. Statistische Auswertung:

Die Prozenthäufigkeiten der Fütterungsraten bei verschiedenen Membranspannungen wurden anhand der m x n-Tafel (CAVALLI-SFORZA 1972) verglichen. Die durchschnittlichen Fütterungsraten bei wechselnden Membrantemperaturen wurden mittels des Logit-Modells GLIM 3 (Royal Statistical Society, London) bewertet.

3. Ergebnisse:

3.1. Charakterisierung der Membran:

Bei Angebot des Blutes durch Silikon- und Latex- Membranen nahmen Weibchen von W. lineata bei der Membranspannung 1 (gleichmäßige Dehnung der Membran um 1 mm) am häufigsten Blut auf (Silikon: 74,5 %; Latex: 65,0 %). Sowohl bei Nullspannung als auch bei stärkerer Spannung waren die Saugraten der Mücken signifikant ($p < 0,01$) niedriger. Bei Nullspannung lagen mit Silikon-Membranen die Ergebnisse zwischen denen, die bei mittlerer und maximaler Spannung erzielt worden waren.

Bei Latex-Membranen wurden bei Nullspannung die geringsten Fütterungsraten verzeichnet (Tab. 1).Bei optimaler Spannung 1 konnte bei Angebot von lyophilisiertem Rinderblut die Rate von 2,2 % auf 19,1 % gesteigert werden, vorausgesetzt die Membranen waren vor dem Saugversuch nicht nur gründlich gewaschen, sondern mehrere Stunden in Wasser gelagert worden ($p < 0,01$).

Die Struktur der homogenen Silikon- und Latex-Membranen ließ sich nicht durch rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen aufklären, da die interessierende Porenstruktur optisch nicht aufgelöst wurde ; diese mußte daher indirekt durch Flüssigkeitspermeation charakterisiert werden.

Die Silikon-Membran war für Wasser oder Blut bei vergleichbarer Membranspannung stets durchlässiger als die Latex-Membran (Tab. 2). Lagerung und Quellung in Wasser verbesserte das Resultat stets erheblich. Wasser und Blut penetrierte am besten bei der Spannung 1. Moleküle mit einem Molekulargewicht von 12300 (Cytochrom C) passierten zu jeweils 17 % die Silikon-Membran der Membranspannungen 0 bis 3, während sie Latex-Membranen gleicher Spannungen nicht passieren konnten. Für Stoffe mit einem Molekulargewicht von 2×10^6 (Dextranblau) sind beide Membranen undurchlässig. Das zum Durchstechen notwendige Gewicht nimmt für beide Membranen mit steigender Membranspannung und damit verbundener Abnahme der Membrandicke ab (Tab. 3).

3.2. Fütterungsraten bei verschiedenen Membranen:

Mit W. lineata wurden die höchsten Fütterungsraten mit Silikon-Membranen erzielt. Durch Latex-Membranen, vor allem aber durch Baudruche-Membranen, wurde das angebotene Blut nur selten aufgenommen (Tab. 3).
Bei Blutsaugeversuchen, in denen W. lineata und B. erythrocephala parallel 6 verschiedene Blutarten angeboten wurde, nahmen W. lineata-♀♀ durch Silikon-Membranen häufiger Blut auf als B. erythrocephala-♀♀, während die Latex-Membranen von B. erythrocephala-♀♀ leicht bevorzugt wurden (Tab. 5).

In Parallelversuchen, in denen die verschiedenen Blutarten jeweils mit oder ohne Zugabe einer ATP-Lösung (10^{-3} mol) angeboten wurden, konnte eine stimulierende Wirkung des ATP's nicht für alle Blutarten eindeutig nachgewiesen werden. Lyophilisiertes Citratblut und frisches Konservenblut wurde nach Zugabe von ATP durch beide Membranen häufiger aufgenommen als ohne ATP, während bei tiefgefrorenem Konservenblut ATP eine Abnahme der Blutsaugeraten bewirkte (Tab. 3).

Die Wirkung von ATP als Saugstimulus hängt auch von der Art der Membran ab. ATP steigerte die Aufnahme von lyophilisiertem Rinderblut durch Silikon-Membranen (50,9 % ohne ATP / 77,2 % mit ATP), während es bei Latex-Membranen die Fütterungsraten verringerte (43,6 % ohne ATP / 27,3 % mit ATP). Bei Angebot von lyophilisiertem Schweineblut stimulierte ATP die Mücken nur bei Gabe des Blutes durch Latex-Membranen (19,3 % ohne ATP / 37,7 % mit ATP) (Tab. 3).

Unabhängig von der Art der Membran wurde menschliches Citratblut nach der Zugabe von 10^{-3} mol ATP von beiden Simuliidenarten am häufigsten aufgenommen. Bei lyophilisiertem Rinderblut dagegen bewirkte ATP schon in der Konzentration 10^{-4} mol (nur für W. lineata untersucht) die höchsten Fütterungsraten (Tab. 4).

3.3. Vergleich der Blutarten:

Sowohl W. lineata als auch B. erythrocephala bevorzugten bei Verwendung von Silikon-Membranen frisches bzw. lyophilisiertes menschliches Citratblut vor allen anderen Blutsorten; bei Latex-Membranen wird keine der Blutsorten so eindeutig bevorzugt (Tab. 5).
Vergleicht man die Saugraten für frisches menschliches Blut mit denen von hämolysiertem Blut, so wird von W. lineata die Blutkonserve als Frischblut, Citratblut und der Blutkuchen dagegen hämolysiert vorgezogen (Tab. 6). In weiteren Parallelversuchen, in denen lyophilisiertes Rinder- und Schweineblut sowohl mit als auch ohne ATP durch Silikon-Membranen angeboten wurde, nahmen die Wilhelmia-♀♀ das Rinderblut häufiger auf (46,5 % ohne ATP bzw. 63,8 % mit ATP) als das Schweineblut (21,8 % ohne ATP bzw. 16,3 % mit ATP) (Tab. 7).

3.4. Einfluß der Membrantemperatur:

Bietet man verschieden temperiertes lyophilisiertes Rinderblut an und ändert die Membrantemperatur in Schritten von 0,5° C zwischen 24° und 44° C, so erhält man eine Aktivitätskurve des Blutsaugens. Ihr Maximum lag bei Silikon-Membranen mit 35,9 % Fütterungserfolg für W. lineata zwischen 33,5° bis 35,0° C und bei Latex-Membranen mit 42 % bei 35,0° bis 36,0° C.
Mit B. erythrocephala konnten die höchsten Fütterungsraten mit Silikon-Membranen (52,1 %) bei niedrigeren Temperaturen zwischen 31,5° und 33,0° C erzielt werden (Abb. 3).

Diese gegeneinander verschobenen Aktivitätskurven der beiden Arten stimmen mit den Freilandbeobachtungen überein. An den Innenseiten der Ohrmuscheln von Rindern, wo W. lineata anfliegt, liegen die durchschnittlichen Hauttemperaturen mit 34,5° ± 0,9° C deutlich höher als am Bauch und Euter mit 31,3° ± 2,2° C, wo B. erythrocephala saugt.

3.5. Besamungsrate und Blutsaugen:

Die Weibchen von W. lineata und B. erythrocephala waren spätestens einen Tag nach Schlüpfen und Massenhaltung in den Käfigen regelmäßig zu 98 % bis 99 % besamt. In einigen Versuchsreihen wurden Weibchen deshalb frühmorgens unmittelbar nach dem Schlüpfen d.h. noch vor der Kopulation sowie einige Stunden später d.h. bereits besamt gesammelt und beide Gruppen nach 24 Stunden zum Blutsaugen an Silikon-Membranen angesetzt. Bei beiden Arten waren die Fütterungsraten der besamten Weibchen, bestätigt durch Präparation des Receptaculum seminis, mit 58,3 % bzw. 28,6 % etwas höher als die der unbesamten Weibchen mit 54,8 % bzw. 22,2 %. Die Unterschiede sind jedoch nicht signifikant.

3.6. Optimierung der Fütterungstechnik:

Mit zwei Tage alten Weibchen von W. lineata konnten nach optimaler Einstellung der Membranspannung und -temperatur, bei Angebot von lyophilisiertem Rinderblut mit ATP (10^{-4} mol) durch Silikon-Membranen schließlich regelmäßige Fütterungsraten von 80,9 % erzielt werden. Die Standardabweichung betrug während dieser Versuchsserie 12,1 % bei 21 Einzelversuchen.

3.7. Überlebensraten, Eientwicklung und reale Natalität:

Mit Mücken des gleichen Brutplatzes und gleicher jahreszeitlicher Population wurde die Eientwicklung nach Aufnahme von 6 Blutarten untersucht. Für W. lineata betrug die Menge aufgenommenen Blutes das 1,3 bis 1,6 fache des Körpergewichtes. Die höchste Rate von Weibchen mit einer Eientwicklung (100 %), die höchste reale Natalität (185 Eier/♀) und Umsetzung des aufgenommenen Blutes (103 Eier/mg Blut) wurde mit frischem Citratblut erzielt. Bei den übrigen Blutsorten war die Zahl entwickelter Eier allgemein niedriger (157 bis 167 Eier/♀). Die höchste Zahl von Mücken ohne Eientwicklung (17 %) konnte mit tiefgefrorenem Humanblut, dem Serum entzogen worden war,

sowie mit lyophilisiertem Citratblut (12 %) nachgewiesen werden. Abgesehen von Konservenblut war nach Aufnahme von hämolysiertem Blut - unabhängig ob es durch Tiefgefrieren oder Lyophilisieren hämolysiert worden war - die Zahl entwickelter Eier pro Milligramm aufgenommenen Blutes verringert (Tab. 8).

B. erythrocephala nahm etwas weniger, nämlich das 0,6 bis 1 fache des Körpergewichtes an Blut auf. Außerdem war die Zahl der Weibchen, deren Blutmahlzeit erst nach Präparation festgestellt wurde, bei B. erythrocephala (23,3 %) deutlich höher als bei W. lineata (3,9 %). Trotzdem war die reale Natalität bei Boophthora-♀♀, berücksichtigt man alle 6 Blutsorten, mit durchschnittlich 178 Eiern/♀ mindestens gleich hoch wie bei Wilhelmia-♀♀ mit 166 Eiern/♀ (Tab. 8). Nach Aufnahme von hämolysiertem Blut wurden durchschnittlich mehr Eier pro Milligramm aufgenommenen Blutes entwickelt (294 Eier/mg Blut) als nach Aufnahme von frischem Blut (197 Eier/mg Blut) und nur bei 7,7 % aller Mücken fand keine Eientwicklung nach Blutsaugen statt.

Die Überlebensrate während der Eireifungsphase betrug im Durchschnitt für W. lineata 81 % bzw. für B. erythrocephala 71 %. Die Aufnahme von frischem Blut führte zu etwas höheren Mortalitätsraten als die von hämolysiertem Blut. Lediglich bei der Oviposition war W. lineata überlegen und bei 74 % der überlebenden Weibchen konnte eine Eiablage stimuliert werden. Bei B. erythrocephala waren es nur 14 %.

Zur Einschätzung der realen Natalität über das ganze Jahr wurde W. lineata-♀♀ von Juni bis Oktober d.h. zwei der drei saisonalen Generationen regelmäßig lyophilisiertes Rinderblut mit ATP (10^{-3} mol) angeboten. Von 663 Weibchen, die Blut aufgenommen hatten, entwickelten 95,8 % Eier, die durchschnittliche Eizahl lag bei 126 Eiern/♀. Nach Fütterung am Kaninchen wurden von den Mücken der selben Generationen zu 94,1 % Eier entwickelt, die durchschnittliche Eizahl lag mit 175 Eiern/♀ signifikant höher ($p < 0,01$).

4. Diskussion:

4.1. Membranen:

Die Fütterungsraten von W. lineata und B. erythrocephala hängen zunächst von der Art der verwendeten Membran ab. In Vorversuchen schieden Cellophan-, asymmetrische Polysulfon-, Celluloseacetat- und Polyamid- (Nomex-) Membranen aus, da trotz mehrfacher Anwendung keinerlei Saugaktivität beobachtet werden konnte. Vermutlich haben diese Membranen eine zu glatte Oberfläche und eine zu geringe Elastizität, obwohl sie saugstimulierende Substanzen wie z.B. ATP (M_r 551,15) passieren lassen (PUSCH und WALCH 1982). Glossinen beispielsweise üben beim Stechakt einen erheblichen Druck mit der Proboscis auf die Membran aus (DETHIER 1954) und benötigen dazu einen festen Halt für die Beine. Auf einer glatten Cellophanhaut stehend gelang es ihnen nicht, eine Tierhaut zu durchstechen (GORDON et al. 1956).

Die höchsten Fütterungsraten wurden für W. lineata mit einer Silikon-Membran erzielt, und B. erythrocephala schien die Latex-Membran vorzuziehen (Tab. 3 und 5). Da die Apparatur zur gleichen Zeit nur mit einer Temperatur betrieben werden konnte, wurde die Membranpräferenz bei der für W. lineata und Silikon-Membran optimalen Temperatur von 34,5° C bestimmt. Bei Latex-Membranen lag das Temperaturoptimum für W. lineata jedoch zwischen 35° und 36° C (Abb. 3). Die Bevorzugung der Silikon-Membran durch W. lineata wäre wahrscheinlich weniger ausgeprägt ausgefallen, wenn die Versuche mit beiden Membranen auch bei der höheren Temperatur durchgeführt worden wären. Für B. erythrocephala waren 34,5° C für die Silikon-Membran vergleichsweise hoch, für die Latex-Membran, die bevorzugt wurde, offenbar ungefähr richtig. Beide Membranen sind daher wohl etwa gleich gut, wenn man die artspezifisch und membranspezifisch optimale Temperatur einhält.

Neben der Temperatur der Membran kommt es sehr auf ihre Spannung an. Stets erwies sich die gleichmäßige Ausdehnung

der Membran um 1 mm als signifikant am besten (Tab. 1). Obwohl die Membran bei maximaler Spannung experimentell am leichtesten durchstochen werden konnte (Tab. 2), nahmen die Fütterungsraten mit steigender Spannung nicht kontinuierlich zu. Die Dicke der Membran verändert sich dabei nur relativ wenig und kann die Unterschiede nicht erklären. Mechanisch bedingte Schwierigkeiten scheiden ebenfalls aus, da nie Weibchen bei vergeblichen Saugversuchen beobachtet wurden. Allenfalls bei Baudruche-Membranen, mit denen die niedrigsten Fütterungsraten erzielt wurden,könnte möglicherweise neben der zu geringen Elastizität eine zu geringe Membrandicke die Blutaufnahme erschweren; ähnliches wurde für Tsetse-Fliegen festgestellt (WETZEL 1979 a).
Offensichtlich werden Silikon- und Latex-Membranen mäßiger Spannung bevorzugt, weil sie dann für die stimulierenden Blutinhaltsstoffe wie ATP maximal durchlässig sind. Beide Eigenschaften coinzidieren mit optimalen Fütterungsraten. Hierfür spricht auch, daß nach Quellen in Wasser die Membranen für Wasser und Blut allgemein durchlässiger wurden. Zugleich stiegen damit auch die Fütterungsraten.

Neben der Wärme (GATEHOUSE 1970) induzieren vor allem olfaktorische Stimuli im Nahbereich die Blutaufnahme. So betrachtet ist die Abhängigkeit der Saugraten von der Durchlässigkeit der Membranen für Blutinhaltsstoffe gut verständlich. McIVER et al. (1980) konnten Chemorezeptoren auf den Tarsen von Simulium venustum rasterelektronenoptisch nachweisen.

Sobald die Membranspannung kontrolliert eingestellt wurde, erreichte man zuverlässig höhere Fütterungsraten. Die beträchtlichen Schwankungen, die sonst selbst während eines Versuchstages auftraten, konnten damit ausgeschaltet werden. Nachdem auch bei Ceratopogoniden (Culicoides nubeculosus) die Höhe der Saugraten eindeutig von der Membranspannung abhängt (WIRTZ, in Vorbereitung), muß dieser Faktor allgemein mehr beachtet werden.

4.2. Blutarten und Zusatzstoffe:

Die getesteten Blutarten oder die Zugabe von ATP zum Blut beeinflußten die Saugaktivität der Simuliiden weit weniger als die besprochenen physikalischen Eigenschaften der Membranen. Mit frischem und lyophilisiertem Citratblut, angeboten durch Silikon-Membranen, wurden für B. erythrocephala und W. lineata die höchsten Fütterungsraten erzielt. Bei Verwendung der Latex-Membran dagegen erwies sich tiefgefrorenes Venenblut, dem ein Großteil des Serums entzogen worden war, als die günstigste Blutsorte. Die Fütterungsraten lagen in diesem Falle jedoch niedriger als bei Citratblut.

Für viele blutsaugende Arthropoden ist ATP als Saugstimulus nachgewiesen (GALUN 1975), so auch für Simuliiden (SUTCLIFFE and McIVER 1975, MOKRY 1976, GRUNEWALD und WIRTZ 1978). Häufig wurde jedoch die Wirkung von ATP nicht zusammen mit Blut getestet (GALUN and MARGALIT 1969, FRIEND and SMITH 1971, GALUN 1976). Wie die Versuche mit W. lineata zeigen, stimuliert ATP die Mücken nicht bei allen Blutsorten. So erhöhte ATP (10^{-3} mol) nur in frischem, tiefgefrorenem und lyophilisiertem Citratblut die Fütterungsraten, in tiefgefrorenem Konservenblut nahm die Saugaktivität nach ATP-Zugabe deutlich ab.

Außerdem bedarf es bei verschiedenen Blutarten unterschiedlicher Konzentrationen von ATP. Eine 10^{-3} molare Lösung bewirkte in frischem Citratblut höhere Saugraten als eine 10^{-4} molare Lösung. Diese erwies sich jedoch in lyophilisiertem Rinderblut als günstigste Konzentration. Das Blut der verschiedenen Wirte enthält von Natur aus unterschiedliche Konzentrationen von ATP (GALUN 1976). Bei der künstlichen Fütterung kann der ATP-Gehalt des Blutes zudem noch von dessen Aufbereitung abhängen (WETZEL 1979 b). Die Membran scheint die Wirkung von ATP als Saugstimulus ebenfalls zu beeinflussen. Nur so läßt sich verstehen, daß z.B. mit ATP in lyophilisiertem Rinderblut bei der Silikon-Membran die Saugrate deutlich erhöht wurde, während sie bei Latex-Membranen abnahm. Bei tiefgefrorenem menschlichen Venenblut war es umgekehrt: ATP bewirkte

bei der Silikon-Membran in diesem Falle eine Verringerung, bei der Latex-Membran dagegen eine Zunahme der Saugaktivität. Die Membranspannung spielte bei diesen widersprüchlichen Resultaten keine Rolle, so daß eventuell Unterschiede zwischen Mensch und Rind in Frage kommen.

4.3. Eientwicklung und Natalität:

Nahezu alle verwendeten Blutarten lösten einen gonotrophischen Zyklus aus. Nur menschliches Erythrozytenkonzentrat führte bei allen Mücken innerhalb eines Tages zum Tod und folglich zu keiner Eientwicklung.

Bei zahlreichen blutsaugenden Arthropoden (BARLOW 1955, WIGGLESWORTH 1960, FRIEND et al. 1965), darunter auch bei Simuliiden (KLOWDEN and LEA 1979; vergl. Teil I), beeinflussen sowohl die Art des Blutes als auch die aufgenommene Menge die Reifung der Oocyten im Ovar.
Die höchste reale Natalität konnte mit frischem menschlichen Citratblut beobachtet werden, während mit hämolysiertem Blut 17 % von W. lineata überhaupt keine Eier entwickelten. Auch die Zahl der Eier pro Milligramm aufgenommenen Blutes war nach Aufnahme von hämolysiertem Blut verringert.
Da von den Blutsorten, mit denen man die höchsten Saugraten erzielte,nicht unbedingt auch die größten Mengen aufgenommen wurden, müssen für eine endgültige Bewertung beide Faktoren berücksichtigt werden.

Bei B. erythrocephala-♀♀ führten zwar nahezu alle untersuchten Blutarten zu einem gonotrophischen Zyklus, die Zahl der Eier pro Weibchen war mit hämolysiertem und lyophilisiertem Blut jedoch ebenfalls am geringsten. Auch die aufgenommene Blutmenge war in diesem Falle geringer.

B. erythrocephala nahm sowohl absolut als auch im Verhältnis zum Körpergewicht stets deutlich kleinere Blutvolumina auf als W. lineata. Dennoch waren die Eigelege von B. erythrocephala größer. Die potentielle Natalität, die von der Anzahl der vorgebildeten Eianlagen abhängt (RÜHM und HECHLER 1974, HECHLER und RÜHM 1976), scheint somit bei B. erythrocephala größer zu sein als bei W. lineata.

Bei Fütterung am Kaninchen lagen bei W. lineata die Eizahlen mit 175 Eiern/♀ im Durchschnitt einer ganzen Saison deutlich höher als bei der Verfütterung von lyophilisiertem Rinderblut durch Silikon-Membranen (126 Eier/♀). Beim Vergleich der Eizahlen aus verschiedenen Jahren müssen auch natürliche Schwankungen der Natalität beachtet werden (RÜHM und HECHLER 1974, COLBO 1982).

Die Mortalität während der Verdauungs- und Eireifungsphase lag bei Membranfütterung für beide Arten mit etwa 25 % niedriger als nach in vivo-Fütterung am Kaninchen (vergl. Teil I). Da das Manipulieren der Mücken bei der Fütterung durch Membranen einfacher ist, blieben auch die Verluste während der Versuche mit etwa 1 % der eingesetzten Mücken niedriger als bei Fütterung am Kaninchen mit etwa 5 %. Die Blutsorten wie z.B. lyophilisiertes Rinder- oder Schweineblut beeinträchtigten die Überlebensraten von W. lineata nicht (RUTSCHKE 1982). Zwar stieg die Mortalität nach Fütterung mit Blut verglichen mit Zuckerwasser ab dem fünften Tag signifikant an. Da jedoch zu diesem Zeitpunkt die Eientwicklung bereits abgeschlossen ist, muß Legenot als Ursache für die erhöhte Mortalität angenommen werden. Für Simuliiden scheinen die verschiedenen Blutsorten und Zusatzstoffe (Natriumcitrat, ACD-Antikoagulans, Heparin) sehr gut verträglich und steriles Arbeiten nicht notwendig zu sein. Dies vereinfacht die Blutfütterung wesentlich. Tsetse-Fliegen dagegen reagieren sehr empfindlich auf Blutzusätze wie Natriumcitrat oder die Kontaminierung der Membran und sterben dann bald nach der Blutaufnahme (WETZEL, pers. Mitteilung).

Mit der künstlichen Ernährung von Simuliiden durch Silikon- und Latex-Membranen konnten hohe und konstant sichere Fütterungs- und Eientwicklungsraten erzielt werden. Die durchschnittlichen Fütterungsraten für W. lineata waren höher als die nach Blutsaugen am Kaninchen (vergl. Teil I). Infolgedessen bietet sich diese Methode, auch wegen der einfachen Handhabung der Apparatur, für die Laboratoriums-

haltung von Blutsaugern an.
Für W. lineata läßt sich anhand der gewonnenen Resultate ein Vermehrungsfaktor von 13,1 errechnen (Tab. 10). Dies ergäbe bei einer Erfolgsquote von 44 % für die Larvenaufzucht (GRUNEWALD 1973) und einem Geschlechterverhältnis von 1:1 einen Multiplikationsfaktor von 2,9 pro Generation. Engpässe treten dabei vor allem bei der Embryogenese der Eier auf (vergl. Teil I). Der Vermehrungsfaktor von B. erythrocephala liegt knapp unter 1, da diese Mücken nur selten zur Oviposition stimuliert werden konnten. Der Zuchterfolg hängt also nicht von der Qualität des Blutes ab, für die Natalität sind vielmehr Verhaltens- und physiologische Faktoren wichtig (Oviposition und Besamung der Eier).

Mit der Apparatur ließen sich schließlich auch Mikrofilarien etwa von Onchocerca tubingensis auf W. lineata (WIRTZ, in Vorbereitung) sowie von O. volvulus auf Ceratopogoniden (C. nubeculosus) (BARTHELMESS, pers. Mitteilung) experimentell mit Vorteil übertragen.

Außer Simuliiden konnten inzwischen Reduviiiden (Rhodnius prolixus und Triatoma infestans aller Larvenstadien und Imagines), Culiciden (Aedes aegypti), Ceratopogoniden (C. nubeculosus) und Tabaniden (Haematopota pluvialis) erfolgreich und zu hohen Prozentsätzen durch beide Membranen gefüttert werden (WIRTZ, in Vorbereitung).

5. Zusammenfassung:

Weibchen von B. erythrocephala und W. lineata wurden in einer Fütterapparatur, in der das Blut erwärmt und gerührt werden kann, verschiedene Blutarten durch Silikon-, Latex- und Baudruche-Membranen angeboten. Die Saugaktivität der Simuliiden hing von den physikalischen Eigenschaften der Membranen und vor allem von deren Spannung ab. Die einzelnen Blutsorten oder die Zugabe von Adenosintriphosphat (ATP) als Phagostimulus beeinflußten das Resultat viel weniger.

Für beide Simuliidenarten wurden die höchsten Saugraten fast stets bei Angebot des Blutes durch Silikon-Membranen erzielt. Für Silikon- und Latex-Membranen erwies sich die gleichmäßige Ausdehnung eines aufgezeichneten Markerkreuzes um 10 % (Membranspannung 1) für die Blutfütterung als optimal. Es bestand eine Korrelation zwischen der Durchlässigkeit der Membran für Wasser und Blut und ihrer Spannung im gleichen Maße wie zwischen der Spannung und der Höhe der erzielten Fütterungsraten.

Die Weibchen von B. erythrocephala und W. lineata bevorzugten frisches bzw. lyophilisiertes menschliches Citratblut durch Silikon-Membranen vor menschlicher Blutkonserve oder Blutkuchen bzw. Rinderblut. Eine sichere stimulierende Wirkung von ATP zum Blut auf die Blutfütterung konnte nur bei Zugabe zu menschlichem Citratblut nachgewiesen werden. Eine ATP-Lösung der Konzentration 10^{-4} mol zu lyophilisiertem Rinderblut führte zu den höchsten Fütterungsraten,während frisches menschliches Citratblut nach der Gabe einer 10^{-3} molaren Lösung am häufigsten von W. lineata aufgenommen wurde.

Hinsichtlich der Membrantemperatur lagen die höchsten Fütterungsraten für Silikon-Membranen bei Angebot von lyophilisiertem Rinderblut bei B. erythrocephala zwischen 31,5° und 35.0°C;W. lineata dagegen zeigte bei Membrantemperaturen zwischen 33,5° und 35,0° C die höchste Saugaktivität. Durch

Latex-Membranen wurden die höchsten Saugraten für W. lineata bei Angebot der gleichen Blutsorte zwischen 35° und 36° C erzielt.

Nach Optimierung der Technik wurden mit W. lineata durchschnittliche Fütterungsraten von 81 % erreicht, die Schwankungen lagen bei etwa 10 %.

Ein gonotrophischer Zyklus, d.h. eine Eientwicklung, wurde nach Aufnahme aller getesteten Blutsorten ausgelöst. Für W. lineata wurde mit frischem Citratblut die höchste Eientwicklungsrate (100 %), Natalität (185 Eier/♀) bzw. die höchste Eizahl pro Milligramm aufgenommenen Blutes (103 Eier/♀) erzielt. B. erythrocephala-♀♀ entwickelten im Durchschnitt mehr Eier als W. lineata-♀♀ der gleichen jahreszeitlichen Population, obwohl letztere durchschnittlich größere Blutmengen aufgenommen hatten. Die Überlebensraten während der Eireifungsphase betrugen für B. erythrocephala 71 % und für W. lineata 81 %. Von diesen konnten aber nur 14 % bzw. 74 % zur Eiablage stimuliert werden.

W. lineata konnte bei Blutfütterung durch Membranen mit ausreichendem Erfolg bis zum ersten Larvenstadium gebracht werden (Vermehrungsfaktor 13,1). Die schärfsten Engpässe sind bei W. lineata die Embryogenese der Eier, während für B. erythrocephala die Stimulation zur Oviposition der begrenzende Faktor bildete.

Mit der gleichen Technik konnten außerdem Aedes aegypti, Culicoides nubeculosus und Haematopota pluvialis sowie Rhodnius prolixus und Triatoma infestans zu hohen Prozentsätzen mit Blut gefüttert werden. Ferner ließen sich Mikrofilarien von Onchocerca tubingensis auf W. lineata übertragen.

H.P. Wirtz: Nutrition and Reproduction in Palaearctic and African Blackflies (Simuliidae: Diptera) II. Bloodfeeding of Boophthora erythrocephala De Geer and Wilhelmia lineata Meigen through Artificial Membranes. Thesis for Dr. rer. nat. in Biology, Tuebingen.

Abstract:

Laboratory-emerged-♀♀ of B. erythrocephala and W. lineata were offered different kinds of blood through silicone-, latex- and baudruche-membranes using a feeding apparatus in which the blood was kept warm and stirred continously. Feeding activity was influenced by the membrane conditions, particularly the tension of the membrane. The quality of the blood or addition of adenosine-triphosphate (ATP) was less important. Feeding rates were usually higher with silicone- than with latex- or baudruche-membranes and using silicone- or latex-material for bloodfeeding best results were obtained by symmetrically stretching the membranes increasing the diameter of a 10 mm marker by 10 %. There was a positive correlation between permeability and tension of the membrane as well as between tension and bloodsucking activity.

Both species prefered fresh or freeze-dried citrated human blood for feeding. The addition of 10^{-3} M ATP to ten different qualities of blood improved feeding rates in citrated human blood only. Highest bloodsucking activity was found by changing the concentration to 10^{-4} M ATP added to freeze-dried bovine blood, whereas 10^{-3} M ATP remained best for citrated human blood. Using silicone-membranes B. erythrocephala fed best between 31.5° and 35.0° C whereas for W. lineata the maximum was between 33.5° and 35.0° C,however, with latex-membranes it increased to 35° and 36° C.

For all groups of W. lineata feeding rates of 81 ± 12 % were obtained under optimal conditions and fed on fresh citrated human blood they developed 185 eggs/♀ corresponding to 103 eggs/ mg blood. Other kinds of blood yielded lower egg numbers.

Egg production in all groups of B. erythrocephala was higher despite smaller sizes of the blood meals. About 30 % to 20 % of both species died during maturation of eggs. Oviposition could be induced in 74 % of surviving W. lineata, but in only 14 % of B. erythrocephala.

Feeding the flies through artificial membranes and rearing to the first instar larvae a production factor of 13.1 resp. 3.9 is calculated for W. lineata and B. erythrocephala. When the larvae are reared to adults with 44 % efficiency a reproduction of 2.9 resp. 0.9 per generation results.

Furthermore Aedes aegypti, Culicoides nubeculosus, and Haematopota pluvialis as well as Rhodnius prolixus and Triatoma infestans could be fed with blood. In addition with this technique it is possible to tranfer microfilariae of Onchocerca tubingensis to W. lineata.

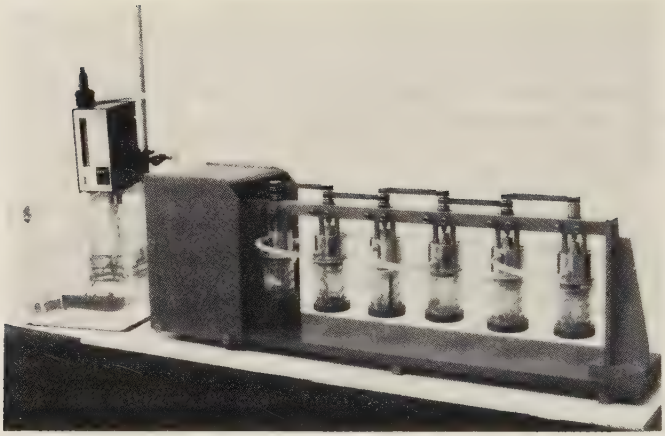


Abb. 1: Membran-Fütterapparatur mit sechs Fütterkammern zur Blut-Fütterung von Simuliiden-$\frac{QQ}{++}$, links daneben Wasserbad zur Erwärmung des Blutes.

Abb. 2: Fütterkammer zerlegt: Heizkammer (1) mit Einlauf links und Auslauf rechts für erwärmtes Wasser. Blutkammer (2) mit Rührflügel, unten zu verschließen mit Membranring (3). Mückenkammer (5), Schaumstoffpfropfen (6) verschließt Einblasöffnung. Plexiglasscheibe (4) mit kreuzförmigem Schlitz zum Einstellen der Membranspannung.

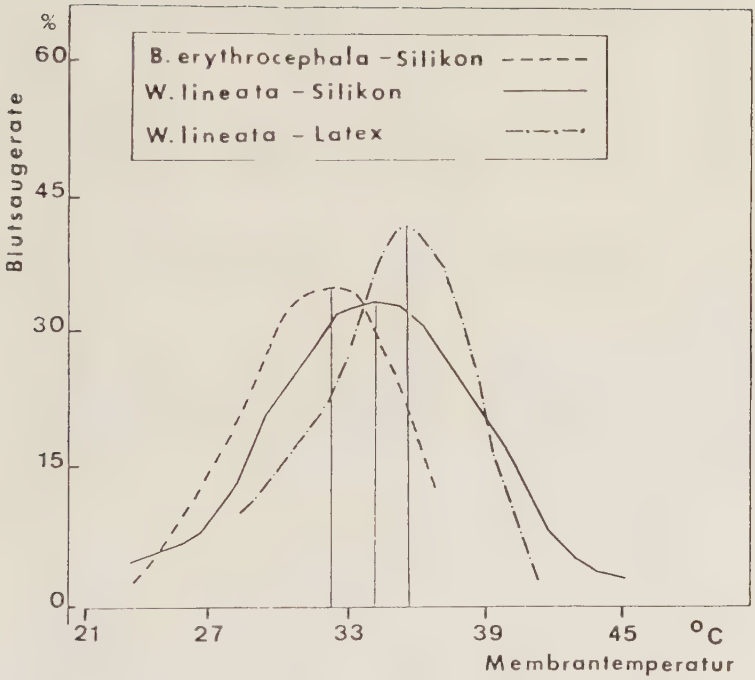


Abb. 3: Blutsaugeraten in Abhängigkeit von der Membrantemperatur für W. lineata und B. erythrocephala bei Angebot von lyophilisiertem Rinderblut durch Silikon- und Latex-Membranen.

Membran		Membranspannungen 0	1	2	3	Statistische Absicherung
SILIKON	♀♀ ges./ total	34 / 89	70 / 94	34 / 76	17 / 79	P< 0,01
	% gesaugt	38,2	74,5	44,7	21,5	
	Membrandicke (mm)	0,12-0,16	0,07-0,09	0,04-0,07	0,03-0,04	
LATEX	♀♀ ges./ total	6 / 61	39 / 60	27 / 61	16 / 60	P< 0,01
	% gesaugt	9,8	65,0	44,3	26,7	P< 0,05 für
	Membrandicke (mm)	0,06-0,08	0,03-0,04	0,02	0,01-0,02	1 und 2

Tabelle 1: Blutsaugeraten für Puppen-♀♀ von W. lineata bei Angebot von lyophilisiertem Rinderblut durch Silikon- und Latex-Membranen verschiedener Membranspannung. P = Irrtumswahrscheinlichkeit

Physikalische Eigenschaften		SILIKON Spannungen 0	1	3	LATEX Spannungen 0	1	3
Membran-durch-lässigkeit (mg/h)	Wasser	1,75	3,75	3,25	0,30	0,85	0,65
	Blut	1,00	1,50	1,25	0,13	0,20	0,18
Rückhalte-vermögen (%)	Dextran-blau	100 *	100	100	100	100	100
	Cytochrom-C-Lösung	83 *	83	83	100	100	100
Membran-Durchstechbar-keit (Gewicht in g)		9,02	7,96	5,15	11,27	11,21	9,17
Membrandicke (mm)		0,11-0,20	0,05-0,08	0,04-0,06	0,05-0,07	0,02-0,03	0,01-0,02

Tabelle 2: Physikalische Eigenschaften von Silikon- und Latex-Membranen unterschiedlicher Spannung. * = Rückhaltevermögen zusätzlich in einer Ultrafiltrationszelle mit Rührwerk bestimmt.

BLUTSORTE	ZUSATZ	MEMBRANEN: SILIKON GES. ♀♀/TOTAL	%	LATEX GES. ♀♀/TOTAL	%	BAUDRUCHE GES. ♀♀/TOTAL	%
RIND	-	28 / 55	50,9	24 / 55	43,6	3 / 66	4,6
INSTANT	ATP	44 / 57	77,2	15 / 55	27,3	1 / 69	1,5
SCHWEIN	-	32 / 58	55,6	11 / 57	19,3	5 / 20	25,0
INSTANT	ATP	30 / 56	53,6	23 / 61	37,7	1 / 20	5,0
BLUT-	-	45 / 70	64,3	8 / 67	11,9	--	--
KONSERVE	ATP	47 / 71	66,2	11 / 69	15,9	--	--
BLUT-	-	50 / 66	75,8	22 / 68	32,4	--	--
KONSERVE TIEFGEFR.	ATP	43 / 62	69,4	4 / 66	6,1	--	--
BLUT-	-	35 / 98	35,8	28 / 95	29,5	0 / 59	0
KONSERVE INSTANT	ATP	37 / 98	37,8	24 / 93	26,1	1 / 60	1,7
HUMAN	-	33 / 60	55,0	10 / 60	16,7	5 / 20	25,0
Citratblut FRISCH	ATP	38 / 60	63,3	27 / 60	45,0	2 / 20	10,0
HUMAN	-	25 / 81	30,9	10 / 79	12,7	2 / 61	3,3
Citratblut TIEFGEFR.	ATP	30 / 83	36,1	13 / 80	16,3	1 / 59	1,7
HUMAN	-	31 / 83	37,3	30 / 85	35,3	2 / 68	2,9
Citratblut INSTANT	ATP	52 / 82	63,4	37 / 86	43,0	2 / 69	2,9
HUMAN	-	50 / 58	86,2	24 / 60	40,0	7 / 60	11,7
BLUT- KUCHEN	ATP	36 / 61	59,0	27 / 62	43,6	0 / 60	0

Tabelle 3: Blutsaugeraten für Puppen-♀♀ von W. lineata bei Angebot verschiedener Blutarten mit oder ohne Zugabe von ATP (10^{-3} mol) durch Silikon- und Latex-Membranen gleicher Spannung bzw. durch Baudruche-Membranen.

Species	BLUTSORTE	ATP - KONZENTRATIONEN: -	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	MEMBRAN
		GES. ♀♀/TOTAL	GES.♀♀/TOTAL	GES.♀♀/TOTAL	GES.♀♀/TOTAL	GES.♀♀/TOTAL	
WILHELMIA	HUMAN Citratblut FRISCH	48 / 68	50 / 72	60 / 70	42 / 67	33 / 66	SILIKON
	%	70,6	69,4	85,7	62,7	50,0	
BOOPHTHORA	HUMAN Citratblut FRISCH	16 / 21	13 / 14	16 / 16	15 / 19	16 / 18	
	%	76,2	92,4	100	79,0	88,9	
WILHELMIA	RIND INSTANT	58 / 88	65 / 87	63 / 90	49 / 88	47 / 85	
	%	65,9	74,7	70,4	55,7	55,3	
WILHELMIA	HUMAN Citratblut FRISCH	20 / 55	24 / 52	32 / 65	16 / 49	24 / 56	LATEX
	%	36,4	46,2	49,2	32,7	42,9	
BOOPHTHORA	HUMAN Citratblut FRISCH	20 / 36	16 / 19	26 / 36	23 / 43	26 / 46	
	%	55,6	41,0	72,2	53,5	56,5	
WILHELMIA	RIND INSTANT	16 / 49	24/48 ($1X10^{-4}$)	12 / 50	7 / 44	--	
	%	32,7	50,0	24,0	15,9	--	
			22/47 ($3X10^{-4}$)				
			46,8				
			25/49 ($5X10^{-4}$)				
			51,0				

Tabelle 4: Anreicherung des Blutes mit ATP verschiedener Konzentrationen bei Angebot durch Silikon- oder Latex-Membran gleicher Spannung (Spannung 1). Blutsaugeraten von W. lineata und B. erythrocephala.

BLUTSORTE		Silikon - Membran						Latex - Membran					
		W. lineata			B. erythrocephala			W. lineata			B. erythrocephala		
		ges.♀♀/total	ges. %	teilw. ges. %	ges.♀♀/total	ges. %	teilw. ges. %	ges.♀♀/total	ges. %	teilw. ges. %	ges.♀♀/total	ges. %	teilw. ges. %
Blutkonserve	frisch	19 / 68	27,9	5,3	16 / 77	20,8	18,8	10 / 90	11,1	0	9 / 28	32,1	22,2
	Instant	23 / 70	32,9	4,4	14 / 71	19,7	7,1	7 / 86	8,1	0	4 / 29	13,8	0
Citratblut	frisch	28 / 60	46,7	3,6	29 / 68	42,7	3,5	9 / 95	9,5	0	8 / 24	33,3	25,0
	Instant	36 / 70	51,4	5,6	24 / 61	39,3	62,5	16 /100	16,0	6,3	8 / 24	33,3	62,5
Blutkuchen	tiefgefroren	23 / 58	39,7	4,4	21 / 75	28,0	4,6	18 / 99	18,2	0	8 / 22	36,4	25,0
Rind	Instant	25 / 66	37,9	0	14 / 71	19,7	42,9	11 / 92	12,0	0	9 / 23	39,1	22,2

Tabelle 5: Fütterungsraten von W. lineata und B. erythrocephala bei Angebot verschiedener Blutsorten durch Silikon- und Latex-Membranen. Teilw. ges. = Prozentsatz ♀♀ mit äußerlich nicht erkennbarer Blutmahlzeit.

BLUTSORTE		MEMBRANEN: SILIKON GES.♀♀/TOTAL	%	LATEX GES.♀♀/TOTAL	%
BLUT-KONSERVE + ATP	FRISCH	42 / 69	60,9	22 / 66	33,3
	HÄMOLYS.	38 / 71	53,5	22 / 69	31,9
HUMAN Citratblut + ATP	FRISCH	33 / 48	68,8	20 / 48	41,7
	HÄMOLYS.	36 / 49	73,5	30 / 47	63,8
HUMAN BLUT-KUCHEN + ATP	FRISCH	15 / 29	51,7	6 / 27	22,2
	HÄMOLYS.	22 / 28	78,6	7 / 26	26,9

Tabelle 6: Fütterungsraten von W. lineata bei Angebot von frischem bzw. hämolysiertem menschlichen Blut durch Silikon- oder Latex-Membranen gleicher Spannung (Spannung 1).

ZUSÄTZE	BLUTSORTE: RIND/INSTANT GES.♀♀/TOTAL	%	SCHWEIN/INSTANT GES.♀♀/TOTAL	%
OHNE ATP	46 / 99	46,5	22 / 101	21,8
MIT ATP	51 / 80	63,8	13 / 80	16,3

Tabelle 7: Fütterungsraten von W. lineata bei Angebot von lyophilisiertem Rinder- oder Schweineblut jeweils mit oder ohne Zugabe von ATP (10^{-3} mol) durch Silikon-Membranen gleicher Spannung (Spannung 1).

	B L U T A R T E N					
	Blutkonserve		Blutkuchen	Citratblut		Rind
W. lineata	frisch	Instant	tiefgefroren	frisch	Instant	Instant
Fütterungsrate						
%	27,9	32,9	39,7	46,7	51,4	37,9
Oberlebensrate						
%	63,2	91,3	73,9	75,0	91,7	92,0
Blutmenge aufgenommen						
mg	1,7	1,6	1,8	1,8	1,9	2,1
Eientwicklung						
%	94,1	90,9	83,3	100	87,9	95,7
reale Natalität						
Eier/♀	167	163	162	185	157	159
Eier/ mg Blut	98	102	90	103	83	76
B. erythrocephala						
Fütterungsrate						
%	20,8	19,7	26,0	42,7	39,3	19,7
Oberlebensrate						
%	87,5	71,4	57,1	56,5	75,0	78,6
Blutmenge aufgenommen						
mg	1,0	0,6	0,7	0,9	0,4	0,6
Eientwicklung						
%	100	92,3	100	100	100	100
reale Natalität						
Eier/♀	194	166	191	180	138	169
Eier/ mg Blut	194	277	273	200	345	282

Tabelle 8: Fütterungsraten, Oberlebensraten und Eientwicklung für W. lineata und B. erythrocephala nach Aufnahme von verschiedenen Blutarten durch Silikon-Membranen gleicher Spannung.

Blutsorte	gesaugt ♀♀ %	Blutmenge mg	Natalität Eier/♀	Eier/ mg Blut
Citratblut				
frisch	65,0	1,3	108	83
hämolysiert	95,0	1,7	118	69
Citratblut				
Instant / ohne ATP	43,6	1,7	123	72
Instant / mit ATP	61,5	1,7	118	69
Blutkuchen				
frisch	28,8	1,9	111	58
hämolysiert	36,8	1,4	81	43
Rind				
Instant / ohne ATP	32,6	1,7	158	93
Instant / mit ATP	63,3	1,6	155	97

Tabelle 9: Fütterungsraten, durchschnittlich aufgenommene Blutmenge und Eientwicklung von W. lineata nach Aufnahme verschiedener Blutarten unterschiedlicher Aufbereitung bzw. mit oder ohne Zugabe von ATP.

Species	Blutsauge-raten %	Insemi-nation %	Überlebens-rate %	Eient-wickl. %	Oviposi-tion %	Natalität Eier/♀	Larven c) %	Vermehrungs-faktor	Anteil ♀♀ %	Multi-plikations-faktor[b]
B. erythrocephala	50	98	71	98	14	194	42	3,9	50	0,9
W. lineata	81[a]	99	81	92	74	185	16	13,1	50	2,9

Tabelle 10: Produktionsberechnung für B. erythrocephala und W. lineata anhand der einzelnen Versuchsschritte während der Zucht. a) Optimale Fütterungsrate zugrunde gelegt b) Erfolg der Larvenaufzucht mit 44 % angenommen (Grunewald 1973) c) Entwicklungsraten der Eier aus Teil I zugrunde gelegt.

III. Blutfütterung von Weibchen des Simulium damnosum Theobald Komplexes durch Membranen *

1. Einleitung:

Eine sich selbst erhaltende Laboratoriumskolonie vor allem afrikanischer Simuliiden wird seit längerem gefordert (MUIRHEAD-THOMSON 1966, RAYBOULD 1967, RÜHM 1973, RAYBOULD and GRUNEWALD 1975), da die Zusammenhänge von Ernährung und Fortpflanzung mit der Übertragung von Onchocerca volvulus immer noch nicht ausreichend geklärt sind. Als erstes konnte eine hämatophage, palaearktische Simuliide mit zunehmender Individuenzahl über drei Generationen gezüchtet werden (GRUNEWALD 1973). Später gelang es auch die im ersten gonotrophischen Zyklus autogene Art Simulium decorum längere Zeit zu halten (SIMMONS and EDMAN 1978, 1981). Inzwischen ist sogar S. damnosum s.l., der Überträger der menschlichen Onchozerkose in Afrika, im Laboratorium gehalten worden. Die Kolonie ging allerdings nach der fünften Generation durch den Schwund der Männchen ein (SIMMONS and EDMAN 1982).

Beim Aufbau einer Kolonie kommt es zuerst auf die Blutfütterung der Weibchen an. Afrikanische Simuliiden nehmen jedoch häufig von Versuchstieren (RAYBOULD and YAGUNGA 1969, WENK and RAYBOULD 1972, GRUNEWALD und WIRTZ 1978) bzw. durch Membranen (McMAHON 1968) nur zwischen 30% und 40 % und ziemlich unregelmäßig Blut auf. Auch Versuche mit Micro-Klistierspritzen (KLOWDEN and LEA 1979) erwiesen sich bisher vor allem bei den kleinen afrikanischen S. damnosum-Arten als wenig erfolgversprechend und technisch zu aufwendig (SIMMONS and EDMAN 1982).

Naturgemäß entscheidet die Blutaufnahme über die Eientwicklung und damit über die Nachzucht überhaupt. Über eine Eireifung oder die Zahl abgelegter bzw. entwickelter Eier werden jedoch nur selten Angaben gemacht (GRUNEWALD und WIRTZ 1978, MOKRY 1980, WIRTZ und GRUNEWALD 1981, SIMMONS and EDMAN 1982).

---

* Mit Unterstützung des Deutschen Akademischen Austauschdienstes, Bonn.

In der vorliegenden Arbeit sollte der Einfluß verschiedener Blutarten und Zusatzstoffe nicht nur auf das Blutsaugeverhalten, sondern auch auf die Eireifung und Eientwicklung der Weibchen des S. damnosum-Komplexes untersucht werden. Neben den Versuchen mit künstlichen Membranen wurden zur Kontrolle entsprechende Versuche am Kaninchen durchgeführt.

Herrn Dr. J.N. Raybould (Onchocerciasis Control Programme, WHO) verdanke ich wertvolle Anregungen und tatkräftige Unterstützung. Die Herren Dr. L.K.A. Derban, Dr. E.K. Obeng-Asamoah und J.H. Adiamah von der VRA (Accra) und der VLRDP (Akosombo), Ghana, sind meinen Vorhaben offen entgegengekommen. Technische Hilfe erhielt ich von den Herren D.A. Boakye, C. Kyorku, F. Mordzifa und R.D. Akortor. Meine Frau M. Wirtz half mir im Laboratorium und bei der Feldarbeit. Herrn Dr. G. Deichsel (Institut für medizinische Biometrie Tübingen) hat mich bei der statistischen Auswertung beraten. Allen sei ausdrücklich gedankt.

2. Material und Methodik:

2.1. Allgemeines:

Die Versuche wurden im Research Laboratory des "Onchocerciasis Control Programme" der Weltgesundheitsorganisation (WHO) am Public Health Laboratory, Akosombo, des Volta Lake Research and Development Project (VLRDP, Akosombo, Ghana) durchgeführt. Die verwendeten nulliparen Weibchen wurden aus Puppen gezüchtet (Puppen-♀♀), die von den Brutplätzen der Senchi Rapids (Atimpoku) stammten. In diesen Stromschnellen konnten folgende vier Arten des S. damnosum-Komplexes nachgewiesen werden: S. damnosum s.s. Theobald, S. sirbanum Vajime and Dunbar, S. soubrense Vajime and Dunbar und S. sanctipauli Vajime and Dunbar (RAYBOULD, pers. Mitteilung).

Die Imagines schlüpften aus Puppenmaterial, das in schwarzen Stoffkäfigen mit einem dreieckigen Gazefenster (WENK and RAYBOULD 1972) ausgelegt war. Alle Mücken erschienen innerhalb von 1 - 3 Tagen und verblieben in der Regel nur einen Tag im Käfig. Weibchen, die später als nach einem Tag zur Blutfütterung angesetzt werden sollten, wurden einzeln in Plastikröhrchen 45 x 15 mm (RAYBOULD et al. 1982) gehalten und mit einer 2 % Zuckerlösung gefüttert. Außerdem wurden Weibchen zum Blutsaugen angesetzt, die beim Anflug auf den Menschen (Anflug-♀♀) von erfahrenen "fly collectors" abgefangen worden waren, bevor sie an diesen Blut aufnehmen konnten. Diese Weibchen wurden in Einzelröhrchen gefangen und gehalten und meist innerhalb von 1 - 5 Stunden nach dem Fang zum Blutsaugen angesetzt. Den Anflug-♀♀ wurde vor dem Saugversuch kein Zuckerwasser angeboten.

Alle eingesetzten Weibchen wurden zur Artdifferenzierung auf die Farbe der Setae (wing tufts) untersucht (DANG and PETERSON 1980). Über 95 % der Puppen- und Anflug-♀♀ hatten ausschließlich helle Setae und waren daher dem Artenpaar S. damnosum / S. sirbanum zuzuordnen. Cytotaxonomische Untersuchungen von Larvenproben, die stichprobenartig dem Brutplatz (Senchi Rapids) entnommen worden waren, ergaben 90 % S. damnosum s.s. und 10 % S. sirbanum (FIASORGBOR 1981).

2.2. Fütterung durch Membranen:

In einer modifizierten und vergrößerten Fütterapparatur (GRUNEWALD und WIRTZ 1978, vergl. Teil II) wurden 10 Blutarten verschiedener Herkunft und Vorbehandlung und mit unterschiedlichen Zusatzstoffen durch zwei Membranen angeboten. Die tierischen Blutarten waren 1) lyophilisiertes, defibriniertes Rinderblut (Find/Instant), pH 8,7 und 2) lyophilisiertes, defibriniertes Schweineblut (Schwein/Instant), pH 8,4 (WETZEL 1980).
Die Humanblutarten waren 1) Blutkonserve frisch, pH 6,6 2) tiefgefroren, pH 6,8 und 3) lyophilisiert, pH 6,8 jeweils mit ACD-Adenin-Antikoagulans 4) Citratblut (Venenblut mit 3,8 % Natriumcitrat) frisch (1:10) 5) tiefgefroren, pH 7,6 und 6) lyophilisiert (2:10), pH 7,6 7) Venenblut mit Ethylendiamintetraacetat (EDTA, 1 mg/ml Blut) frisch und 8) tiefgefroren.

Die Blutaufnahme erfolgte durch Latex-Kondomgummi (Sheik-regular-prophylactics, Julius Schmid of Canada LT; Dicke: 0,06 mm) oder durch synthetische Silikon-Membranen (WETZEL 1979, vergl. Teil II). Ohne Spannung war die Silikon-Membran 0,08 - 0,15 mm dick. In jede Fütterkammer wurden pro Versuch etwa 10 Mücken mit einem Exhaustor eingebracht und dort 30 - 50 Minuten zum Blutsaugen belassen. Während der Versuche wurden die Raum- und Membrantemperatur festgehalten (Technoterm 9500, Testoterm KG, Lenzkirch).

2.3. Blutsaugen am Kaninchen:

Die Puppen- und Anflug-♀♀ wurden einem jungen braunen Kaninchen-♀ und einem schwarz-weißen Kaninchen-♂, beide mit ralativ kurzen Ohren, gefüttert. Pro Versuch wurden etwa 10 Weibchen in den zur Ohrmuschel führenden Gazeschlauch geblasen und nach 30 - 45 Minuten mit dem Exhaustor wieder abgesaugt. In späteren Versuchen wurde eine so enganliegende Perlonhaube über die Ohrmuscheln gezogen, daß die Mücken nur auf der wenig behaarten Innenseite der Ohren

saugen konnten. In diesem Fall wurden die Mücken mit dem Exhaustor direkt in die Höhlung der Ohrmuschel gesetzt und auf die sonst eingelegte Drahtspirale wurde verzichtet (GRUNEWALD und WIRTZ 1978, vergl. Teil I).

2.4. Haltung der Weibchen nach der Blutfütterung:

Mücken, die sichtbar Blut aufgenommen hatten, wurden einzeln in 4 ml Kunststoffröhrchen von 30 x 15 mm (vergl. Teil I) gehalten. Täglich wurde ein Wattebausch mit einer 2 % Zuckerlösung auf die Gaze des Deckels gelegt. Je 36 Röhrchen kamen in eine Plastik-Gefrierdose, die unverschlossen blieb. Die Mücken ließen sich bei Raumtemperaturen von 24° - 28° C über 2 - 3 Tage zur Blutverdauung und Eireifung halten.

Drei Tage nach Fütterung wurde in jedes Röhrchen etwa 1 ml Leitungswasser gefüllt und das Röhrchen danach leicht geschüttelt, um die Mücken zur Eiablage zu stimulieren (LEWIS et al. 1961). Vorher war ein durchsichtiger Polythenstreifen eingelegt worden,mit dessen Hilfe die Eigelege später in Zuchtrinnen eingehängt und die Embryonalentwicklung beobachtet werden konnte (RAYBOULD et al. 1982).

2.5. Statistische Auswertung:

Zum Vergleich der Fütterungsraten in Abhängigkeit der verschiedenen Membrantemperaturen diente das Logit-Model GLIM 3 (Royal Statistical Society, London).

3. Ergebnisse:

3.1. Fütterungsraten für verschiedene Membranen und Blutarten:

Anflug-♀♀ wurden 10 verschiedene Blutarten durch Silikon- bzw. Latex-Membranen angeboten (Abb. 1). Die Membrantemperatur betrug 32,6 ° - 33,4 ° C. Die Verlustrate während der Saug-

versuche lag im Durchschnitt bei 9 %. Mit nahezu allen Blutarten wurden mit Silikon-Membranen deutlich höhere Fütterungsraten als mit Latex-Membranen erzielt (Abb. 2). Die höchsten Saugraten durch Silikon-Membranen (46,2 %) konnten beim Angebot von frischem Konservenblut beobachtet werden. Durch Latex-Membranen wurde bevorzugt lyophilisiertes Konservenblut ohne Zusatz von ATP aufgenommen (44,1 %). Mangels lyophilisierten Konservenblutes fehlt ein vergleichender Versuch durch Silikon-Membranen.

Die Zugabe einer ATP-Lösung (10^{-3} mol) erhöhte die Saugraten im allgemeinen nicht. Nur bei lyophilisiertem Schweineblut waren mit ATP deutlich höhere Saugraten festzustellen, gleichgültig ob Latex- oder Silikon-Membranen vorlagen (Silikon: 36,2 % mit ATP / 26,7 % ohne ATP; Latex: 18,8 % mit ATP / 5,0 % ohne ATP). Bei frischem Konservenblut bewirkte ATP sogar eine Abnahme der Fütterungsraten (Silikon: 29,1 % mit ATP / 46,2 % ohne ATP; Latex: 7,9 % mit ATP / 32,5 % ohne ATP). Bei allen angebotenen Blutarten nahmen regelmäßig zahlreiche Weibchen nur eine kleine, äußerlich nicht erkennbare Blutmahlzeit auf. Bei Silikon-Membranen waren geringe Fütterungsraten meist mit einem hohen Prozentsatz nur teilweise gefütterter Weibchen verbunden (Tab. 1). Die Fütterungsraten schwankten bei allen Blutarten auch innerhalb von Parallelversuchen mit Mücken des gleichen Materials und bei Angebot der selben Blutsorte bei Silikon-Membranen zwischen 0 % und 100 % ($\bar{x}$ = 30,4 $\pm$ 22,4 %), bei Latex-Membranen zwischen 0 % und 70 % ($\bar{x}$ = 20,3 $\pm$ 17,3 %).

Am braunen Kaninchen-♀ saugten nur 2 von 33 ♀♀ Blut, während an einem schwarz-weißen Kaninchenbock die Fütterungsrate 77,8 % erreichte. Allerdings wurde beim Kaninchenbock die Fütterungstechnik etwas abgewandelt, so daß die Ergebnisse nicht ohne weiteres vergleichbar sind. Insgesamt gingen während der Saugversuche am Kaninchen durchschnittlich 6 % der angesetzten Mücken verloren (Tab. 3).

Für Puppen-♀♀ wurden die Fütterungsraten für 6 Blutarten durch Silikon-Membranen bestimmt (Tab. 2). Die Membrantemperatur betrug anfangs 32,6° - 33,3° C, später wurde entsprechend der inzwischen bestimmten Aktivitätskurve von S. damnosum s.l. (Abb. 4) bei Temperaturen von 35,0° - 37,7° C gearbeitet. Die Verlustrate während der Saugversuche lag im Durchschnitt bei 11 %. Mit lyophilisiertem Schweineblut und frischem Konservenblut mit ATP konnten jeweils die besten Ergebnisse erzielt werden (28,2 % bzw. 27,7 %). Die Fütterungsraten der Puppen-♀♀ lagen fast stets erheblich unter den vergleichbaren Ergebnissen der Anflug-♀♀ und Konservenblut mit ATP wurde dem gleichen Blut ohne ATP vorgezogen (23,7 % mit ATP / 19,2 % ohne ATP) (Tab. 2). Die Höhe der Fütterungsraten schwankte zwischen 0 % und 70 % ($\bar{x}$ = 17,8 $\pm$ 17,2 %).

Die Puppen-♀♀ nahmen am braunen Kaninchen-♀ nur zu einem geringen Prozentsatz Blut auf (5,3 %). Nach Einblasen der Mücken-♀♀ direkt in die Ohrmuschel konnten allerdings Fütterungsraten von 55,6 % am Kaninchen-♀ und 67,6 % am Kaninchenbock erzielt werden (Tab. 3). Die Verluste während dieser Saugversuche lagen im Durchschnitt bei 5 %.

Anflug- wie Puppen-♀♀ nahmen nach der Blutmahlzeit zum Teil noch reichlich Zuckerwasser auf, selbst wenn die zuvor aufgenommene Blutmahlzeit groß war. Die Mortalitätsrate der Weibchen, denen nach dem Saugen kein Zuckerwasser angeboten wurde, betrug über 80 %.

3.2. Membrantemperatur und Blutsaugen:

Einen Tag alten Puppen-♀♀ wurde zwischen 26,0° und 39,5° C temperiertes lyophilisiertes Rinderblut mit ATP durch Silikon-Membranen angeboten. Die mittlere Raumtemperatur (RT) betrug 27,7° $\pm$ 1,6° C (Minimum: 25,6° C; Maximum: 33,2° C RT). Die höchsten Saugraten von 28 % bis 34 % wurden bei Membrantemperaturen (MT) zwischen 35,0° und 37,5° C erzielt. Ein zweiter etwas schwächerer "peak" wurde zwischen 26° und 28° C

MT beobachtet. In Versuchen, in denen die Temperatur an der Membran gleich oder 1 - 2° C niedriger war als die Umgebungstemperatur, nahmen die Simuliiden noch zu 21,7 % bzw. 10,0 % und 23,2 % Blut auf (Abb. 4).

3.3. Alter und Blutsaugen:

Puppen-♀♀, die jünger als einen Tag und bis vier Tage alt waren, wurde lyophilisiertes Schweineblut ohne ATP, den Altersgruppen 2 Stunden bis 2 Tage zusätzlich Schweineblut mit ATP angeboten. Die Membrantemperatur betrug hierbei 32,8° - 33,0° C.
Weibchen der Altersgruppe 2 Tage wurde bis 6 Stunden vor dem Saugversuch Zuckerwasser angeboten; bei Weibchen der Altersgruppen 3 und 4 Tage wurde das Zuckerwasser nach einem Tag gegen reines Wasser ausgetauscht und wie oben bis 6 Stunden vor dem Saugversuch angeboten. Trotzdem war das Abdomen einiger Mücken vor den Versuchen noch immer prall gefüllt. Solche Weibchen nahmen im Blutsaugeversuch keine Nahrung auf.

Die höchsten Fütterungsraten wurden mit 1 Tag alten Weibchen erzielt (34 % ohne ATP bzw. 57,9 % mit ATP). Jüngere und ältere Puppen-♀♀ zeigten nur eine schwache Saugaktivität (Tab. 4).

3.4. Natalität und Eiablage:

Während der Blutverdauung starben von den Anflug-♀♀ im allgemeinen rund 36 %, bei lyophilisiertem Rinder- und Citratblut (Citratlösung 2:10) jedoch bis zu 60 % der gefütterten Weibchen (Tab. 1). Bei den Puppen-♀♀ war die Mortalität mit etwa 51 % allgemein deutlich höher (Tab. 2).

Zwei bis drei Tage nach dem Blutsaugen wurden die Weibchen zur Eiablage stimuliert und einen Tag später auf die Zahl zurückgehaltener sogenannter Retentionseier untersucht. Bei der Oviposition starben wiederum von den Anflug-♀♀ 32,1 %, von den Puppen-♀♀ 35,0 %. Durchschnittlich konnten bei den meisten Blutarten 66,7 % der überlebenden Anflug-♀♀ und

64,7 % der Puppen-♀♀ zur Eiablage stimuliert werden. Nur nach lyophilisiertem Konservenblut legten beide Gruppen auffallend selten Eier ab (10,0 % bzw. 0 %).

Die höchste reale Natalität wurde bei den Anflug-♀♀ beobachtet, die frisches oder tiefgefrorenes Konservenblut (303 bzw. 272 Eier/♀) oder frisches oder tiefgefrorenes Venenblut mit EDTA (312 bzw. 337 Eier/♀) erhalten hatten. Nach Aufnahme von lyophilisiertem Konserven-, Citrat- oder Rinderblut war die Eizahl mit 187, 227 bzw. 193 Eiern/♀ deutlich geringer (Tab. 7).

Die reale Natalität bei Puppen-♀♀ war für die vergleichbaren Blutarten im Durchschnitt um etwa 35 % geringer als bei Anflug-♀♀. Nach Aufnahme von frischem Humanblut entwickelten sie mehr Eier (180 Eier/♀) als nach lyophilisiertem Blut (135 Eier/♀). Die Zahl der Weibchen, die trotz einer Blutmahlzeit keine Eier entwickelten, war nach lyophilisiertem Blut mit durchschnittlich 79 % besonders hoch (Tab. 7), bei frischem oder tiefgefrorenem Blut lag die Zahl zwischen 36 und 50 %.

Die durchschnittliche Anzahl der Retentionseier betrug bei Anflug-♀♀ 3 Eier/♀, bei Puppen-♀♀ 7 Eier/♀.

3.5. Größe der Blutmahlzeit und Eizahl:

Bei Anflug-♀♀ wurde die aufgenommene Blutmenge anhand der Ausdehnung des Abdomens als " Klein", "Mittel" und "Groß" bestimmt und mit Mücken verglichen, die unter natürlichen Bedingungen am Menschen frisch Blut aufgenommen hatten. Ließ sich erst durch Präparieren eine Blutmahlzeit nachweisen, so konnten diese Tiere hierbei nicht berücksichtigt werden. Ob bei einer solch kleinen Blutmahlzeit überhaupt eine Eientwicklung einsetzt, ist ungewiß.

Bei Blutsorten mit höheren Fütterungsraten beobachtete man entsprechend auch häufiger mittlere und große Blutvolumina (Tab. 5). Bei allen vier untersuchten Blutsorten führten mittlere und große Volumina regelmäßig zu entsprechend ansteigenden Eizahlen pro Weibchen (Tab. 6).

4. Diskussion:

4.1. Fütterungsraten:

Vor allem die Anflug-♀♀ des S. damnosum-Komplexes ließen sich, abhängig von der jeweiligen Blutart und Membran, erfolgreich zu recht hohen Anteilen mit der entwickelten Apparatur füttern. Die Anreicherung des Blutes mit ATP (10^{-3} mol) steigerte nur bei lyophilisiertem Schweineblut stets die Fütterungsraten, bei einigen Blutarten dagegen bewirkte ATP sogar eine Abnahme der Saugaktivität. Nach WETZEL and LUGER (1978) ist für Tsetse-Fliegen bei Angebot von hämolysiertem und lyophilisiertem Blut ATP als Saugstimulanz meist notwendig. Dies ist bei S. damnosum s.l. offensichtlich nicht der Fall.
Auch bevorzugten sie andere Blutarten als z.B. Wilhelmia lineata , die mit ATP angereichertes frisches menschliches Citratblut solchem ohne ATP signifikant vorzog (GRUNEWALD und WIRTZ 1978). S. damnosum s.l.-♀♀ nahmen Citratblut mit oder ohne ATP etwa gleich häufig auf (16,7 % mit bzw. 17,4 % ohne ATP, Latex-Membran). Von allen getesteten Blutarten wurde jedoch frisches Konservenblut (von Afrikanern) bevorzugt aufgenommen (Abb. 1). Die Fütterungsraten entsprachen hierbei denen, die auch McMAHON (1968) bei ostafrikanischen Simuliiden mit tierischen Membranen und frischem menschlichen Blut erhalten hatte (44,6 %). S. damnosum s.l. nahm Citratblut nur selten auf, was McMAHON (1968) in Ostafrika mit der S. damnosum - Mahenge Form ebenfalls beobachtet hatte.

In der vorliegenden Arbeit ergaben sich keine Unterschiede bezüglich der Fütterungsraten bei Angebot von frischem oder zuvor tiefgefrorenem Blut. Für die getesteten Blutsorten können ausreichende Blutsaugeraten erwartet werden, wenn die Membrantemperatur von 33° C auf 35° - 37° C erhöht wird.

Die Fütterungsraten der Puppen-♀♀ waren durchschnittlich geringer als die von Anflug-♀♀. S. damnosum s.l. verhält sich demnach anders als die palaearktischen Boophthora erythro-

cephala und W. lineata (vergl. Teil I). Bei diesen saugten nullipare und durchschnittlich jüngere Puppen-♀♀ besser als Anflug-♀♀.
Die hohe Zahl der S. damnosum s.l.-♀♀, die äußerlich nicht sichtbare Volumina aufnahmen, zeigt, daß die Aufbereitung des Blutes und Beschaffenheit der Membranen noch nicht optimal waren. Anflug-♀♀ waren möglicherweise noch durch den Anflug an den Menschen im Freiland zum Blutsaugen stimuliert und nahmen daher auch bei nicht optimalen Bedingungen Blut auf. Die Zahl der Mücken mit einer makroskopisch nicht erkennbaren Blutmahlzeit war bei Puppen-♀♀ zum Teil besonders hoch. Eine einsetzende Eientwicklung erscheint für diese Weibchen sehr fraglich, nachdem SIMMONS and EDMAN (1982) bei Blutmengen unter 0,1 µl keine Eireifung mehr feststellen konnten.

Lyophilisiertes Blut hat sich unter normalen Laboratoriumsbedingungen in Afrika gut bewährt, während Blutkonserven nur kurze Zeit haltbar sind und Frischblut meist schwierig zu beschaffen ist. Die Art der Membran entscheidet weitgehend über die Saugaktivität der Simuliiden. Für nahezu alle Blutarten waren die Fütterungsraten durch Silikon-Membranen höher als mit Latex-Membranen. Auf die Spannung der Membran wurde in diesen Versuchen allerdings nicht geachtet, ihre Bedeutung war damals noch nicht bekannt. Dies erklärt auch, weshalb die Saugraten, die am Kaninchen erzielt wurden (Tab. 3), höher waren als die der in vitro-Fütterung durch Membranen. Bei optimaler Membranspannung ist auch bei S. damnosum s.l. mit höheren und konstanteren Ergebnissen zu rechnen.

Unter künstlichen Bedingungen wurden bei Membrantemperaturen zwischen 26° und 28° C und zwischen 35° und 37° C die höchsten Fütterungsraten beobachtet. Diese Temperaturen liegen deutlich unter bzw. über der Hauttemperatur des Menschen in Afrika ($\bar{x}$ = 32,6 ± 0,9° C; Minimum: 30,9° C, Maximum 34,7° C). Erstaunlicherweise fallen bei künstlichen Membranen die niedrigsten Saugraten in den Bereich der mittleren Hauttemperatur des Menschen. Möglicherweise war die Blutzu-

sammensetzung (Rinderblut) dafür verantwortlich. Die statistisch gesicherte zweigipflige Saugkurve läßt jedoch vermuten, daß noch weitere Faktoren wie z.B. die Membranspannung und die Blutaufbereitung die Saugaktivität beeinflußten.

Im Gegensatz zu S. venustum (SUTCLIFFE and McIVER 1975) nahmen S. damnosum s.l.-♀♀ auch bei Membrantemperaturen, die gleich oder unter der Raumtemperatur lagen, noch zu recht hohen Anteilen Blut auf. Bei einer Membrantemperatur von 39,4° C, d.h. wesentlich über der Hauttemperatur des Menschen, wurden noch Fütterungsraten von über 10 % beobachtet. Allerdings trockneten in dieser Versuchsreihe zahlreiche Weibchen ein. Die Membrantemperatur war in dem gemessenen Bereich (26° - 39,5° C) sicher nicht der entscheidende Stimulus. Entsprechendes folgerten auch SUTCLIFFE and McIVER (1975, 1979) in ihren späteren Versuchen.

Nullipare Weibchen saugten im Alter von einem Tag am besten. McMAHON (1968) erzielte dagegen mit S. (Odagmia) ornatum die besten Fütterungsraten, wenn die Weibchen 3 - 9 Tage alt waren (vergl. Teil I). Bei den höheren Temperaturen der Tropen darf man mit einem beschleunigten Stoffwechsel der Mücken rechnen und kann so die höhere Saugaktivität von erst einen Tag alten S. damnosum s.l.-♀♀ erklären.

4.2. Natalität und Oviposition:

Die durchschnittliche Zahl entwickelter Eier war bei Anflug- wie Puppen-♀♀ meist bei den Blutarten am höchsten, mit denen auch die besten Saugraten erzielt worden waren. Stets waren die durchschnittlichen Eizahlen jedoch niedriger (Tab. 8) als die der Weibchen, die zum gleichen Zeitraum direkt am Menschen Blut aufgenommen hatten (349 $\pm$ 159 Eier/Anflug-♀). Bei der Fütterung durch Membranen nehmen die Mücken meist weniger Blut auf als am natürlichen Wirt. Wie bei palaearktischen Arten (vergl. Teil I und II) hing auch bei S. damnosum s.l. die Natalität von dem aufgenommenen Blutvolumen ab (Tab. 6).

Wahrscheinlich waren allerdings auch nicht alle verwendeten Blutqualitäten optimal. Bei Anflug- wie Puppen-♀♀ war die Natalität bei lyophilisiertem Blut um etwa 25 % geringer als bei frischem oder tiefgefrorenem Humanblut. Besonders bei Puppen-♀♀ war der Anteil der Mücken, die trotz einer deutlich sichtbaren Blutmahlzeit keine Eier entwickelten, mit 36 - 85 % (Durchschnitt 40 %) recht hoch. In Kontrollversuchen entwickelten Puppen-♀♀ der gleichen Population und gleichen Alters nach Blutsaugen am Menschen fast immer Eier. Bei Anflug-♀♀ war dagegen nach Membranfütterung nur bei etwa 10,0 % der Weibchen mit Blut keine Eireifung zu beobachten. Eventuell benötigen die Weibchen von S. damnosum s.l. für einen gonotrophischen Zyklus außer Blut noch unbedingt Zuckerwasser bzw. Nektar, wie dies für Aedes hexodontus (BARLOW 1965) festgestellt worden war. Im Freiland nehmen die Mücken vermutlich zuerst Nektar auf. Vielleicht entwickelten deshalb Anflug-♀♀ bei künstlicher Fütterung zu etwa 90 % Eier über das dritte Oozytenstadium hinaus. Dagegen konnten Puppen-♀♀ im Laboratorium allenfalls die angebotene Zuckerlösung aufnehmen. Es wäre auch möglich, daß sie nach der Aufnahme vor allem von lyophilisiertem Blut durch Membranen Schwierigkeiten während der Blutverdauung bekommen. Entsprechende Beobachtungen wurden nach künstlicher Fütterung gemischter Blut-Zucker-Lösungen gemacht (WENK 1965, RÜHM 1973, GRUNEWALD und WIRTZ 1978)

Zur Eiablage konnten nur relativ wenige Weibchen stimuliert werden. BOAKYE and RAYBOULD (in Vorbereitung) erzielten inzwischen eine signifikant bessere Oviposition mit der "Twilight" Methode von SIMMONS and EDMAN (1981).

Da in der Region von Akosombo nur eine Art des S. damnosum-Komplexes und diese nur zu 0,5 - 1 % in Gefangenschaft kopuliert (RAYBOULD, pers. Mitteilung), war die Zahl der Larven, die sich aus den Eiern der Puppen-♀♀ entwickelten und schlüpften, erwartungsgemäß gering. Aber auch in den wenigen Gelegen besamter Weibchen entwickelten sich jeweils nur einige Eier zu ersten Larven heran.

Wie die vorliegenden Ergebnisse zeigen, können die mit anderen Simuliidenarten gewonnenen Erfahrungen nicht ohne weiteres auf den S. damnosum-Komplex übertragen werden. Eine Fütterung der Weibchen z.B. durch Baudruche-Membranen (WIRTZ and RAYBOULD, in Vorbereitung), die Einstellung der optimalen Membranspannung sowie die Zugabe von Proteinen (Albumin) zum Blut, lassen auch bei S. damnosum s.l. in Zukunft höhere Fütterungs- und Eientwicklungsraten erwarten. Mit unserer Technik könnten somit auch afrikanische Simuliiden, insbesondere des S. damnosum-Komplexes, in größerem Maßstab mit zuverlässigem Erfolg durch Membranen gefüttert werden. Damit könnten auch Mikrofilarien übertragen und deren Weiterentwicklung in der Mücke unter kontrollierten Bedingungen untersucht werden.

5. Zusammenfassung:

Weibchen des Simulium damnosum-Komplexes wurden zehn verschiedene Blutarten teilweise mit und ohne Zugabe einer Adenosintriphosphat-Lösung (ATP, 10^{-3} mol) durch Silikon- und Latex-Membranen in einer Apparatur angeboten, in der das Blut erwärmt und gerührt werden kann. Als Kontrolle dienten Fütterungsversuche an Kaninchenohren.

Die Saugraten waren bei Silikon-Membranen meist deutlich höher als bei Latex-Membranen. Weibchen, die im Freiland am Menschen abgefangen worden waren, bevor sie Blut aufnehmen konnten (Anflug-♀♀), zeigten allgemein höhere Fütterungsraten als solche, die im Laboratorium aus Puppenmaterial geschlüpft waren (Puppen-♀♀).

Bei Anflug-♀♀ wurden unabhängig von der Art der Membran die höchsten Saugraten (Silikon: 46 %; Latex: 33 %) mit menschlichem Konservenblut erzielt.

Puppen-♀♀ saugten bestenfalls zu 27 - 32 %, wenn Venenblut mit Antikoagulans, lyophilisiertes Schweineblut oder Konservenblut jedesmal mit ATP geboten wurde. Optimal waren ein Alter von einem Tag und Membrantemperaturen von 35,0°- 37,5° C.

Anflug-♀♀ und Puppen-♀♀ hatten je nach Blutsorte in wechselnder Häufigkeit nur kleine, äußerlich nicht erkennbare Volumina aufgenommen (Anflug-♀♀: 10 - 86 %; Puppen-♀♀: 13 - 75 %). ATP erhöhte die Saugaktivität bei beiden Gruppen nur, wenn lyophilisiertes Schweineblut angeboten wurde.

Am Kaninchen konnten Anflug- wie Puppen-♀♀ regelmäßig zu 74 % bzw. 63 % gefüttert werden.

Mücken-♀♀, die am Menschen ungestört große Volumina gesaugt hatten, entwickelten durchschnittlich 349 Eier/♀. Da S. damnosum s.l. durch künstliche Membranen nur kleine bis mittel-große Mengen Blut aufnahm, war die Natalität entsprechend geringer. Anflug-♀♀ erreichten mit frischem Blut Eizahlen von durchschnittlich 250 bis 313 Eiern/♀ , mit

hämolysiertem Blut (tiefgefroren oder lyophilisiert) mit 145 bis 337 Eiern/♀ (Durchschnitt 220 Eier/♀) deutlich weniger. Die individuell aufgenommene Blutmenge bestimmte die Variation der Eizahl. Nur etwa 10 % aller Weibchen mit sichtbar aufgenommenem Blut entwickelten keine Eier.

Die Eizahlen der Puppen-♀♀ lagen mit frischem Blut im Durchschnitt zwischen 150 und 200 Eiern/♀ und bei lyophilisiertem Blut zwischen 128 und 190 Eiern/♀ wiederum deutlich niedriger. Auch durchliefen Puppen-♀♀ je nach aufgenommener Blutsorte zwischen 35 % bis zu 85 % trotz sichtbar aufgenommenem Blut keinen gonotrophischen Zyklus. Etwa 64 % der Anflug-♀♀ bzw. 49 % der Puppen-♀♀ mit Blut überlebten die Eireifungsphase. Von diesen konnten wieder 67 % bzw. 65 % zur Oviposition stimuliert werden.

H.P. Wirtz: Nutrition and Reproduction in Palaearctic and African Blackflies (Simuliidae: Diptera) III. Bloodfeeding of Simulium damnosum Theobald Complex Females through Artificial Membranes. Thesis for Dr. rer. nat. in Biology, Tuebingen.

Abstract:

Simulium damnosum s.l.-♀♀ were offered blood through artificial membranes using a feeding apparatus in which the blood is kept warm and stirred. Feeding rates and egg production were compared using a synthetic silicone-membrane or a latex-membrane (rubber-contraceptives) for ten different kinds of blood with and without adenosine-triphosphate (ATP, 10^{-3} M). For comparison feeding trials on the ears of rabbits were carried out.

Feeding rates were usually higher with silicone- than with latex-membranes. Wild-caught-♀♀ caught before feeding on humans usually fed better than females emerged from pupae in the laboratory.
The best results were obtained with wild-caught flies using preserved human blood from a blood-bank, irrespective of the kind of membrane (silicone: 46 %; latex: 33 %).
Best feeding was obtained with laboratory-emerged-♀♀ (28 %) on preserved human blood, human blood with anticoagulant or freeze-dried porcine blood all containing ATP. Optimal feeding rates were obtained with one day old females and membrane temperatures between 35.0° and 37.5° C.

Depending on the kind of blood a highly variable percentage of flies took small and to the observer invisible blood meals (wild-caught-♀♀: 10-86 %; laboratory-emerged-♀♀: 13-75 %). Only with freeze-dried porcine blood in both types of flies feeding rates could be enhanced by the addition of ATP.

On rabbits, wild-caught and laboratory-emerged flies fed up to 74 % and 63 % respectively. Flies that could complete their blood meal on humans on average produced 349 eggs/♀. Since S. damnosum s.l. takes only small or medium sized blood volumes through membranes its natality was correspondingly smaller. Wild-caught flies fed on fresh human blood produced 250 to 313 eggs/♀ while those fed on deepfrozen or freeze-dried blood produced 145 resp. 337 eggs/♀. The variation of egg numbers is determined by the different sizes of the blood meals. Only 10 % of all visible fed females developed no eggs at all.

Laboratory-emerged flies produced about 150 to 200 eggs/♀ when fed fresh human blood. Those fed on freeze-dried blood produced significantly less (151 eggs/♀). 36 - 85 % of laboratory-emerged flies showed no egg development at all in spite of a well blood meal.

After a visible blood meal about 64 % of wild-caught and 49 % of laboratory-emerged flies survived the digestion phase and about 65 % of these could be stimulated to oviposition.

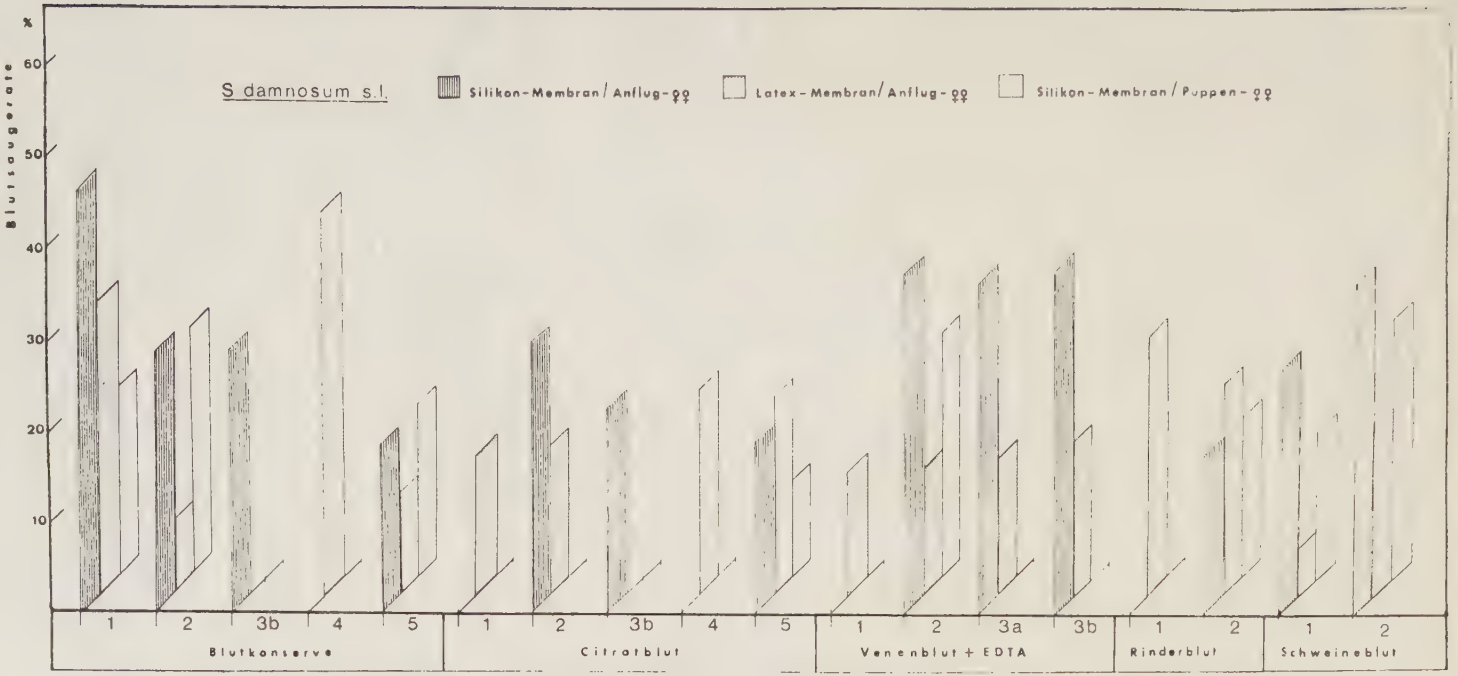
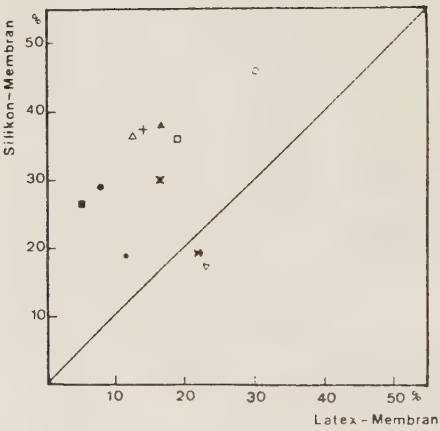


Abb. 1: Blutsaugeraten von Anflug- und Puppen-♀♀ des S. damnosum-Komplexes bei Angebot verschiedener Blutsorten durch Silikon- und Latex-Membranen. Blutsorten: 1. frisches Blut 2. frisches Blut mit ATP 3a. tiefgefrorenes Blut 3b. tiefgefrorenes Blut mit ATP 4. lyophilisiertes Blut 5. lyophilisiertes Blut mit ATP.



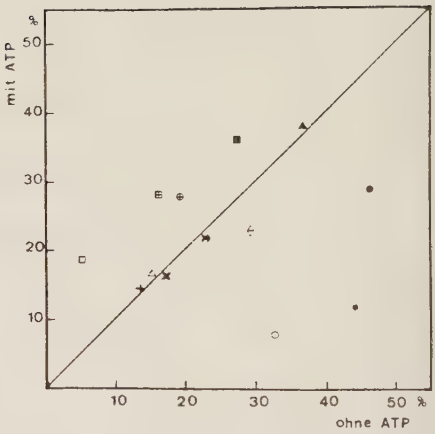


ABBILDUNG 2: MEMBRANVERGLEICH VON SILIKON - UND LATEX - MEMBRAN. BLUTSAUGERATEN BEI ANGEBOT DER VERSCHIEDENEN BLUTSORTEN FÜR ANFLUG - $\overset{00}{++}$ VON S. DAMNOSUM S.L.

ABBILDUNG 3: EINFLUSS VON ATP AUF DIE BLUTSAUGERATEN BEI ANGEBOT DER VERSCHIEDENEN BLUTSORTEN DURCH SILIKON ODER LATEX VON ANFLUG- UND PUPPEN-$\overset{00}{++}$ VON S. DAMNOSUM S.L.

ZEICHENERKLÄRUNG: BLUTKONSERVENBLUT - FRISCH/ SILIKON-MEMBRAN ● , BLUTKONSERVENBLUT - FRISCH/ LATEX-MEMBRAN ○ , BLUTKONSERVENBLUT - INSTANT/ LATEX-MEMBRAN ◐ , CITRATBLUT - FRISCH/ LATEX-MEMBRAN ✕ , CITRATBLUT - INSTANT/ LATEX-MEMBRAN ⋙ , VENENBLUT - FRISCH + EDTA/ LATEX-MEMBRAN + , VENENBLUT - TIEFGEFROREN + EDTA/SILIKON-MEMBRAN ▲ , VENENBLUT - TIEFGEFROREN + EDTA/ LATEX-MEMBRAN △ , RINDERBLUT - INSTANT/ LATEX-MEMBRAN ⊖ , SCHWEINEBLUT - INSTANT / SILIKON-MEMBRAN ■ , SCHWEINEBLUT - INSTANT/ LATEX-MEMBRAN □ ;
PUPPEN-00: BLUTKONSERVENBLUT - FRISCH/ SILIKON-MEMBRAN ⊜ , SCHWEINEBLUT - INSTANT/ SILIKON-MEMBRAN^{++} ⊟ .

Blutsorte		SILIKON-MEMBRAN						LATEX-MEMBRAN				
		♀♀ angesetzt	♀♀ gesaugt	% gesaugt	♀♀ teilweise ges	%	♀♀ totgesaugt in Verdauungsphase	%	♀♀ angesetzt	♀♀ gesaugt	% gesaugt	♀♀ teilweise ges.	%
Human Blut-konserve	frisch	52	24	46,2	5	(20,8)	10 / 39	(25,6)	40	13	32,5	8	(61,5)
	frisch + ATP	251	73	29,1	20	(27,4)	17 / 64	(26,6)	38	3	7,9	0	(0)
	tiefgefroren + ATP	52	15	28,9	2	(13,3)	4 / 11	(36,4)	-	-	-	-	-
	Instant	-	-	-	-	-	-	-	59	26	44,1	13	(50,0)
	Instant + ATP	138	26	18,6	11	(42,3)	0 / 11	(0)	60	7	11,7	5	(71,4)
Human Citrat-blut	frisch	-	-	-	-	-	-	-	46	8	17,4	1	(12,5)
	frisch + ATP	30	9	30,0	3	(33,3)	3 / 5	(60,0)	30	5	16,7	2	(40,0)
	tiefgefroren + ATP	66	15	22,7	6	(40,0)	5 / 15	(33,3)	-	-	-	-	-
	Instant	-	-	-	-	-	-	-	53	12	22,6	5	(41,7)
	Instant + ATP	68	13	19,1	7	(53,9)	5 / 8	(62,5)	50	11	22,0	4	(36,4)
Human Venen-blut + EDTA	frisch	-	-	-	-	-	-	-	29	4	13,8	1	(25,0)
	frisch + ATP	32	12	37,5	3	(25,0)	1 / 10	(10,0)	50	7	14,0	6	(85,7)
	tiefgefroren	52	19	36,5	3	(15,8)	7 / 19	(36,8)	60	9	15,0	5	(55,6)
	tiefgefroren + ATP	63	24	38,1	10	(41,7)	17 / 37	(46,0)	30	5	16,7	2	(40,0)
Rinder-blut	Instant	-	-	-	-	-	-	-	59	17	28,8	12	(70,6)
	Instant + ATP	73	13	17,8	6	(46,2)	10 / 17	(58,8)	60	14	23,3	5	(35,7)
Schweine-blut	Instant	75	20	26,7	11	(55,0)	-	-	60	3	5,0	1	(33,3)
	Instant + ATP	69	25	36,2	8	(32,0)	-	-	69	13	18,8	6	(46,2)

Tabelle 1: Blutsaugeraten und Mortalität während der Verdauungsphase für Anflug-♀♀ von S. damnosum s.l. nach Angebot verschiedener Blutarten durch Silikon- und Latex-Membranen. Membrantemperatur 32,6° - 33,4° C. ♀♀ teilweise gesaugt = Anzahl bzw. Prozentsatz der ♀♀ mit äußerlich nicht erkennbarer Blutmahlzeit.

Blutsorte		Membran-temperatur °C	♀♀ angesetzt	♀♀ gesaugt	% gesaugt	♀♀ teilweise gesaugt	%	♀♀ tot/gesaugt Verdauung	% tot
Human	frisch	32,8	203	39	19,2	14 / 39	35,9	4 / 15	26,7
Blut-	frisch + ATP	31,0-32,8	152	36	23,7 27,7	13 / 36	37,2	50 / 72	69,4
konserve		35,0	159	50	31,5	19 / 50			
	Instant + ATP	33,2	174	34	19,5	9 / 34	26,5	14 / 25	56,0
Human Citrat-blut	Instant + ATP	33,0	37	4	10,8	3 / 4	75,0	-	-
Human Venenblut + EDTA	frisch + ATP	32,8	45	12	26,7	2 / 12	16,7	5 / 10	50,0
Rinder-blut	Instant + ATP	32,3-33,3	140	17	12,1 17,0	14 / 17	73,5	24 / 35	68,6
		35,7	60	17	28,3	11 / 17			
Schweine-blut	Instant	32,8	179	29	16,2	11 / 29	37,9	3 / 9	33,3
	Instant + ATP	32,8	85	24	28,2	3 / 24	12,5	-	-

Tabelle 2: Blutsaugeraten und Mortalität während der Verdauungsphase für Puppen-♀♀ von S. damnosum s.l. bei Angebot verschiedener Blutarten durch eine Silikon-Membran. ♀♀ teilweise gesaugt = Anzahl bzw. Prozentsatz der ♀♀ mit äußerlich nicht erkennbarer Blutmahlzeit.

Blutwirt	Technik	Anflug - ♀♀ gesaugt/total	% ges.	Puppen - ♀♀ gesaugt/total	% ges.
Kaninchen-♀	a	2 / 33	6,1	4 / 76	5,3
	b	-	-	20 / 36	55,6
Kaninchen-♂	b	28 / 36	77,8	25 / 37	67,6

Tabelle 3: Blutsaugeraten bei Fütterung von Anflug- und Puppen-♀♀ von S. damnosum s.l. an Kaninchenohren. Technik a) enge Perlonhaube und Gebrauch einer konischen Spirale, Mücken vor Öffnung der zusammengerollten Ohrmuschel gesetzt. b) enge Perlonhaube, keine Spirale, Mücken in die zusammengerollten Ohrmuscheln gesetzt.

S. damnosum s.l. ♀♀	Alters-Gruppen				
	<1 Tag	1 Tag	2 Tage	3 Tage	4 Tage
Schweineblut / Instant o h n e ATP					
total	129	50	94	58	23
gesaugt	12	17	14	7	2
% gesaugt	9,3	34,0	14,9	12,1	8,7
teilweise gesaugt	4	7	8	5	1
% teilweise gesaugt	33,3	41,6	57,1	71,4	50,0
Schweineblut / Instant m i t ATP					
total	66	19	20	-	-
gesaugt	13	11	3	-	-
% gesaugt	19,7	57,9	15,0	-	-
teilweise gesaugt	3	0	0	-	-
% teilweise gesaugt	23,1	0	0	-	-

Tabelle 4: Einfluß des Alters der Mücken auf die Saugaktivität der Puppen-♀♀ von S. damnosum s.l. bei Angebot von lyophilisiertem Schweineblut durch Silikon-Membranen. Membrantemperatur 32,8° - 33,0° C. Teilweise gesaugt = ♀♀ mit äußerlich nicht erkennbarer Blutmahlzeit.

Blutsorte		♀♀ ges., total	♀♀ teilweise gesaugt	Größe der Blutmahlzeit klein ♀♀ / ges.	mittel ♀♀ / ges.	groß ♀♀ / ges.	Rest ♀♀ / ges.
Blut-konserve	frisch	57 / 112	21 / 57	11 / 36	15 / 36	8 / 36	2 / 36
	%	50,9	36,8	30,6	41,7	22,2	5,6
	frisch + ATP	49 / 121	11 / 49	16 / 38	16 / 38	5 / 38	1 / 38
	%	40,5	22,5	42,1	42,1	13,2	2,6
Human Venen-blut + EDTA	frisch + ATP	13 / 42	3 / 13	4 / 10	2 / 10	4 / 10	0 / 10
	%	31,0	23,1	40,0	20,0	40,0	0
	tiefge-gefroren	19 / 52	3 / 19	3 / 16	9 / 16	2 / 16	2 / 16
	%	36,5	15,8	18,8	56,3	12,5	12,5
	tiefge-gefroren + ATP	24 / 63	10 / 24	6 / 14	6 / 14	1 / 14	1 / 14
	%	38,1	41,7	42,9	42,9	7,1	7,1

Tabelle 5: Größe der Blutmahlzeit und Anzahl von Anflug-♀♀ in den verschiedenen Größenklassen bei Aufnahme verschiedener Blutarten. Teilweise gesaugt = Anzahl bzw. Prozentsatz der ♀♀ mit äußerlich nicht erkennbarer Blutmahlzeit.

Blutsorte		Größe der Blutmahlzeit klein Eier/ ♀	mittel Eier/ ♀	groß Eier/ ♀
Blut-	frisch	167 n = 7 ♀♀	295 n = 12 ♀♀	386 n = 7 ♀♀
konserve	frisch + ATP	184 n =13 ♀♀	245 n = 14 ♀♀	377 n = 3 ♀♀
Human Venen- blut + EDTA	frisch + ATP	65 n = 3 ♀♀	220 n = 2 ♀♀	388 n = 4 ♀♀
	tiefge- froren	190 n = 7 ♀♀	366 n = 5 ♀♀	422 n = 2 ♀♀
$\bar{x}$		170 ± 108 n = 30 ♀♀	280 ± 105 n = 33 ♀♀	389 ± 87 n = 16 ♀♀

Tabelle 6: Durchschnittliche Eizahl für Anflug-♀♀ in Abhängigkeit von der aufgenommenen Blutmenge.

Blutsorte		Anflug - ♀♀ Gonotroph. Zyklus ♀♀ / ♀♀ Blut	Oviposition ♀♀ / ♀♀†	Natalität Eier / ♀	Retention Eier/♀	Puppen - ♀♀ Gonotroph. Zyklus ♀♀ / ♀♀ Blut	Oviposition ♀♀ / ♀♀†	Natalität Eier/♀	Retent. Eier/♀
Human Blut-konserve	frisch	26 / 29	23 / 26	303 ± 94	5 ± 13	7 / 11	5 / 7	180 ± 41	0
	%	89,7	88,5			63,6	71,4		
	frisch + ATP	44 / 47	27 / 44	250 ± 104	2 ± 8	14 / 26	13 / 14	200 ± 43	10 ± 28
	%	93,6	61,4			53,9	92,9		
	tiefgefroren + ATP	8 / 9	5 / 7	272 ± 80	0	-	-	-	-
	%	88,9	71,4						
	Instant + ATP	10 / 11	1 / 10	187 ± 62	2	4 / 16	0 / 4	135 ± 61	-
	%	90,9	10,0			25,0	0		
Human Citrat-blut	frisch	2 / 2	1 / 2	278 ± 45	0	-	-	-	-
	%	100	50,0						
	tiefgefroren + ATP	9 / 10	6 / 9	145 ± 57	0	-	-	-	-
	%	90,0	66,7						
	Instant	4 / 5	1 / 3	227 ± 56	0	-	-	-	-
	%	80,0	33,3						
Human Venenblut + EDTA	frisch + ATP	7 / 9	5 / 7	313 ± 110	0,2±0,5	3 / 6	1 / 3	150 ± 93	0
	%	77,8	71,4			50,0	33,3		
	tiefgefroren	11 / 11	9 / 11	337 ± 49	47±95	-	-	-	-
	%	100	81,8						
	tiefgefroren + ATP	28 / 31	15 / 20	182 ± 99	6 ± 14	-	-	-	-
	%	90,3	75,0						
Rinderblut	Instant	5 / 8	3 / 5	193 ± 63	1 ± 0,5	1 / 12	0 / 1	128	-
	%	62,5	60,0			15,4	0		
Schweineblut	Instant	-	-	-	-	2 / 6	1 / 2	190 ± 45	0
	%					33,3	50,0		

Tabelle 7: Eientwicklungsrate, Oviposition , Natalität und Zahl der bei der Ablage zurückgehaltenen Eier für Anflug- und Puppen-♀♀ von S. damnosum s.l. nach Aufnahme verschiedener Blutarten. Oviposition = Stimulation der ♀♀ zur Eiablage, die die Verdauungsphase überlebt hatten.

IV. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen der Mundwerkzeuge von Wilhelmia lineata Meigen während des Blutsaugens

1. Einleitung:

Die Mundwerkzeuge der Culiciden erregten immer schon das Interesse der Forscher (REAUMUR 1740) und wurden immer wieder untersucht (GORDON and LUMSDEN 1939, GORDON and CREWE 1948, SCHIEMENZ 1957). Die Anatomie und Funktion des Stechapparates der Simuliiden wurde vergleichsweise seltener bearbeitet (GIBBINS 1938, KRAFCHIK 1942). Erst eine vollständige Arbeit zur Anatomie des Kopfes von Wilhelmia equina (WENK 1962) erlaubte es, auch auf die Funktion der einzelnen Teile des Stechapparates näher einzugehen. Die Scherenbewegung der Mandibeln und das Vorstoßen der Maxillen waren nur mit einer Flexion an entsprechend vorgebildeten Strukturen zu verstehen, das Ausmaß solcher Bewegungen und damit auch die Tiefe des Einstiches und Spreizung der Wunde nur indirekt festzustellen. Nachdem sich Simuliiden durch künstliche Membranen regelmäßig füttern lassen (vergl. Teil II), konnte man auch Weibchen von W. lineata während des Blutsaugens fixieren und die Mundwerkzeuge im Rasterelektronenmikroskop (REM) mit ausreichender Tiefenschärfe darstellen.

2. Material und Methodik:

Einen Tag alten nulliparen Weibchen von W. lineata wurden in einer modifizierten Apparatur (GRUNEWALD und WIRTZ 1978) lyophilisiertes Rinderblut bei einer Temperatur von 34,5° C durch Silikon-Membranen angeboten. Bei optimaler Spannung (vergl. Teil II) war die Membran 0,08 mm dick. Während des Blutsaugens wurden die Mücken mit Hilfe eines Kälte-Sprays (Kälte-Spray 75, Kontakt Chemie, Rastatt) aus etwa 5 cm Entfernung besprüht und so in Bruchteilen von Sekunden bis auf minus 42° C abgekühlt. Der Kältespray hinterläßt keine störenden Rückstände auf den Mücken oder der Membran, ist ungiftig, unbrennbar und chemisch indifferent.

Die Membran mit den anhaftenden Mücken-♀♀ wurde mehrmals in Pufferlösung gewaschen, die Mücken in toto einige Tage in 3,5 % Glutaraldehyd mit Sörensen-Puffer, pH 7,4, bei 4° C fixiert und mit einer 2 % Osmiumtetroxid-Lösung (OsO_4) für einige Stunden nachfixiert. Nach der Dehydrierung über eine aufsteigende Acetonreihe folgte die Trocknung der Präparate nach der "Critical-Point-Methode" (Polaron E3000). Die Präparate wurden mit Gold-Palladium bedampft und in einem Cambridge Stereoscan 250 bei 7,5 bis 15 kV untersucht.
Ein Teil der Mücken-♀♀ wurde nach der Dehydrierung von der Membran gelöst, um die gespreizten Mundwerkzeuge getrennt darstellen zu können.

Herrn H.D. Hüttemann (Geologisches und Paläontologisches Institut Tübingen) möchte ich besonders für seine Arbeit am Rasterelektronenmikroskop sowie für die Herstellung der photographischen Aufnahmen danken. Ebenso schulde ich Frau A. Kaltenbach für ihre technische Unterstützung Dank. Herrn Prof.Dr. P. Wenk danke ich für wertvolle Anregungen und die kritische Durchsicht des Manuskriptes.

3. Ergebnisse und Diskussion:

Labrum (Lr), Mandibeln (Md), Maxillen (Mx), Hypopharynx (Hy) und Labium (Lb) bilden zusammen die Proboscis. Das Labium (Unterlippe), das in der Ruhelage die Proboscis umkleidet (Abb. 1), indem sich die Labialpalpen beiderseits vor dem Labrum schließen, wird beim Stechen maximal gespreizt (Abb. 2). In dieser Stellung sind auf den Labialpalpen deutlich zwei Reihen mit zahlreichen Sinneshaaren sichtbar. Sie werden als Tastsinnesorgane und Chemorezeptoren gedeutet (DETHIER 1955, WENK 1962). Die breit gefächerte Ligula (Lg) des Labiums schließt den Raum zwischen den beiden Labialpalpen nach caudal ab (Abb. 2, 3, 4). Die membranösen Teile des Labrums (Oberlippe) sind beidseits der medianen Leiste stark aufgetrieben (Abb. 2, 3, 7). An der Spitze stehen zwei Gruppen großer Zähne nahe beieinander, dazwischen liegt ein medianer Haftlappen (Hl). Am terminalen Ende finden sich

mehrere Reihen dünner, relativ langer Borsten (Abb. 7 und 8).

Beim Blutsaugen stößt die Oberlippe durch die in der Membran geschaffene Öffnung und ist auf der Innenseite der Membran anhand der langen Borsten zu erkennen. Eine starke Flexion des Labrums oben auf der Membran wie sie WENK (1962) beschreibt, läßt sich bei der Membranfütterung allerdings nicht beobachten (Abb. 11-14). Vielmehr drang auch das Labrum genauso tief wie der Hypopharynx durch die Membran hindurch und spaltete die Wunde nach cranial auf. Wurde der Stechrüssel nach der Fixierung aus der Membran herausgezogen, so markieren die kollabierten membranösen Teile der Oberlippe die Einstichtiefe in der Membran (Abb. 2 u. 3). Möglicherweise handelt es sich hier um ein Artefakt, indem die Membran beim Ablösen vom Stahlring zum Fixieren der Mücken ihre Dehnung verliert und dabei die Oberlippe postmortal zusammendrückt.

Die caudale Hälfte der Wunde wird durch den Hypopharynx aufgespalten (Abb. 12, 14). Er besitzt am terminalen Ende einen fünffachen Saum lanzett- bis borstenförmiger Zähne (Abb. 6), deren äußerster distaler Saum länger und dünner ist, als die Lanzetten der proximal liegenden Säume. In der Mitte des Hypopharynx läuft die Speichelrinne (Abb. 6). Hypopharynx und Ligula sind caudal miteinander verbunden (Abb. 4). Der Hypopharynx konnte stets auf der Innenseite der Silikonmembran an den durchgetretenen Lanzetten und Borsten erkannt werden (Abb. 12-14). Cranial, d.h. vor dem Hypopharynx,befinden sich die beiden löffelförmigen Mandibeln. Diese laufen am Ende stumpfwinklig zu und beide Kanten sind mit kurzen,sägeartigen Zähnen versehen (lateral und median 20+12) (Abb. 9). WENK (1962) rekonstruierte die Bewegungsweise der Mandibeln als eine Ab-Adduktion, verbunden mit einer geringen Torsion und Pro-Retraktion, wobei die Schnittkanten scherenartig durch sich überkreuzende Adduktion in die Haut einschneiden. Die Schneiden

der Mandibeln konnten in der geforderten Position nachgewiesen werden (Abb. 9 und 12). Die Maxillen liegen caudal des Hypopharynx. Mit ihren beiden nach hinten gerichteten Leisten aus 21 recht groben Zähnen (Abb. 4, 5 und 9), dienen sie wohl nicht nur zum Einsenken des Hypopharynx in die Wunde, sondern verankern die Proboscis in der Membran. Allerdings konnten in keinem der Präparate die Maxillen auf der Membraninnenseite beobachtet werden.

Die Form und Bezahnung der Mandibeln und Maxillen werden von einigen Autoren zur Artdifferenzierung herangezogen (DAVIES and PETERSON 1956, PETERSON 1970, QUILLÉVÉRÉ et al. 1977, RIVOSECCHI 1978, ONO 1978, Zwick, pers. Mitteilung). Es fehlt jedoch ein konsequenter Vergleich dieser Merkmale über viele Arten.

B. erythrocephala-♀♀ der Herbstgeneration aus der Oberrheinebene besitzen auf beiden Schnittkanten der Mandibel, d.h. median und lateral, zusammen 38 Zähne und auf den beiden Maxillarzahnleisten 23 Zähne (Abb. 15-17). RIVOSECCHI (1978) gibt für B. erythrocephala 36 Mandibelzähne auf beiden Reihen zusammen an. Die innerartliche Variabilität dieser Zahnreihe sollte untersucht werden, bevor sie als Bestimmungsmerkmal dienen kann. Aus Untersuchungen von S. damnosum s.l. kennt man Schwankungen in der Zahl der Maxillenzähne bereits (QUILLÉVÉRÉ et al. 1977).

Mit Hilfe der REM konnten die lichtmikroskopischen Befunde der äußeren Morphologie der Mundwerkzeuge größtenteils bestätigt werden. Beim Saugen durch eine künstliche Membran scheint das Labrum weniger abgewinkelt zu werden und dafür tiefer in die Wunde einzudringen als dies beim Blutsaugen in vivo auf Grund seiner Struktur angenommen wird. Die geringe Dicke der Membran sowie deren Elastizität könnten dafür verantwortlich sein.

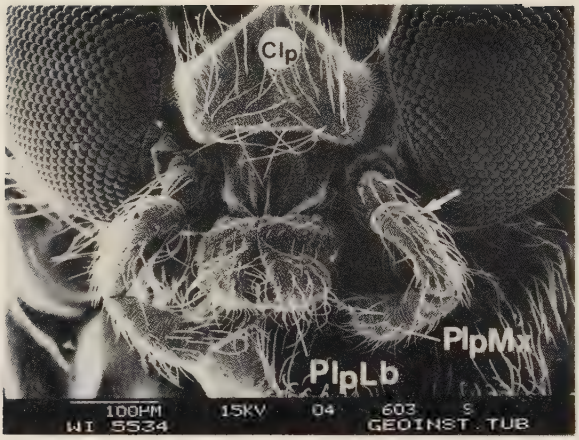


Abb. 1: W. lineata-♀: Proboscis in Ruhelage.
PlpMx = Maxillarpalpus mit Lutz'schem Organ (Pfeil),
PlpLb = Labialpalpus, Clp = Clypeus

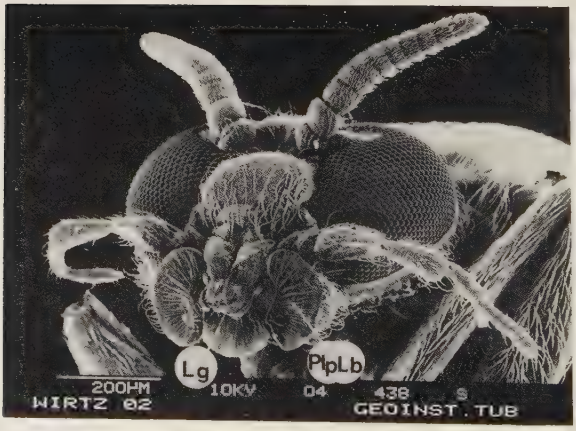


Abb. 2: Proboscis in Stechhaltung. ♀ nach dem Fixieren von der Membran abgelöst. Labialpalpus (PlpLb) und Ligula (Lg) maximal gespreizt.

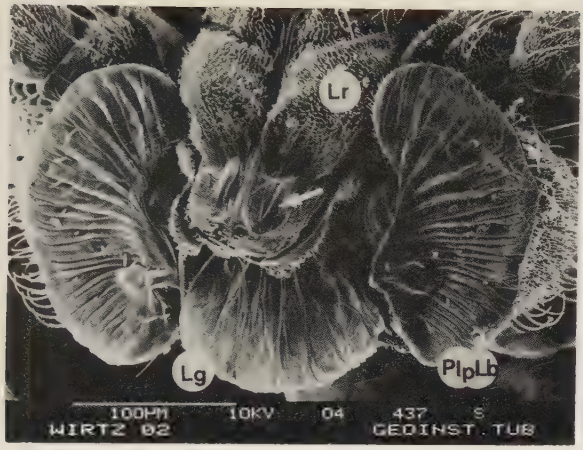


Abb. 3: Proboscis in Stechhaltung mit gespreizten Labialpalpen (PlpLb) und Ligula (Lg). Sinneshaare auf dem PlpLb (Pfeil). Labrum (Lr) in Einstichtiefe kollabiert, innere Versteifungsleisten sichtbar.

Abb. 4: Proboscis caudal mit Lage der stark gezähnten Maxillen (Mx). Prmt = Praementum.

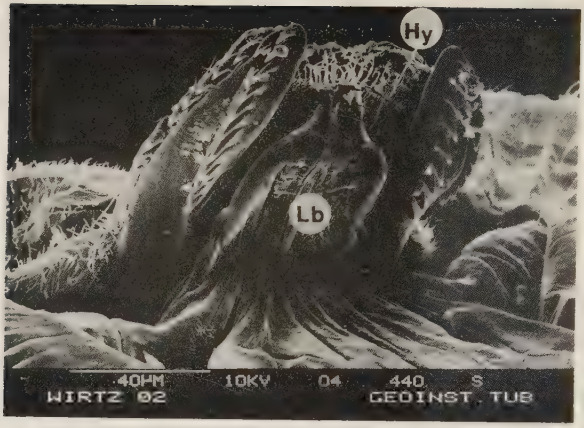


Abb. 5: Maxillen beiderseits des Hypopharynx (H_y). Häutige Verbindung von Ligula und Labium (Lb) und Hypopharynx sichtbar.

Abb. 6: Zahnreihen des Hypopharynx, in der Mitte Speichelrinne schwach sichtbar (Pfeil).

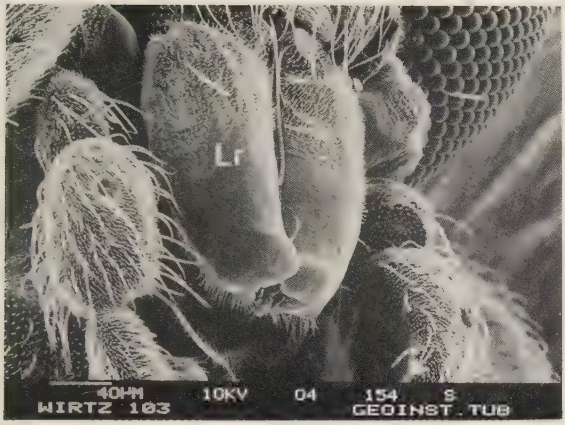


Abb. 7: Oberlippe (Lr) beiderseits der medianen Leiste und an der Spitze stark aufgetrieben. Grobe Zähne am terminalen Ende.

Abb. 8: Terminales Ende der Oberlippe (Lr). Nach innen gezogene Haare sowie die beiden groben Zähne mit medianem Haftlappen (Pfeil) erkennbar.

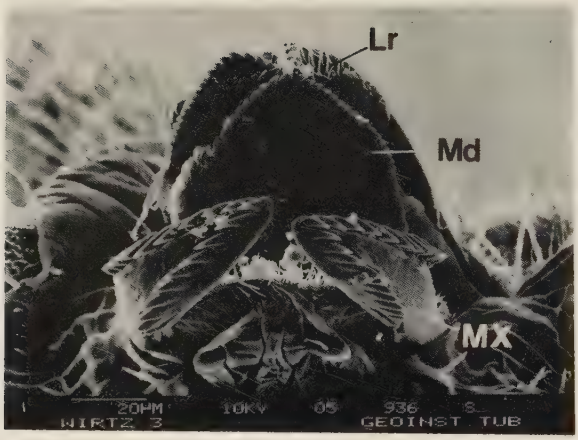


Abb. 9: Lage der beiden Mandibeln und Maxillen, Haare des Labrums im Hintergrund.

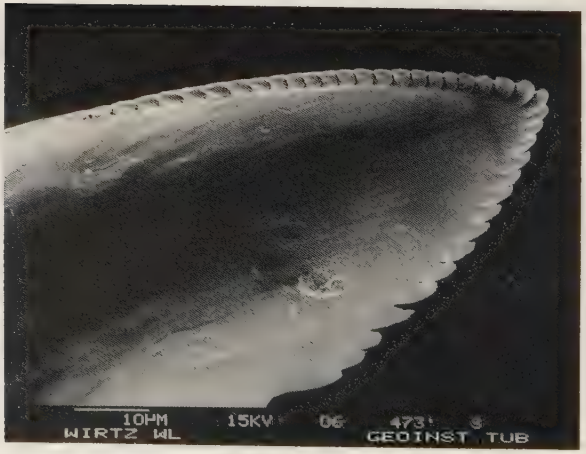


Abb. 10: Laterale und mediane Zahnreihe einer Mandibel (Md) von W. lineata.

Abb. 11: Proboscis während des Saugens in Membran eingesenkt. Rechter PlpLb. leicht abgehoben.

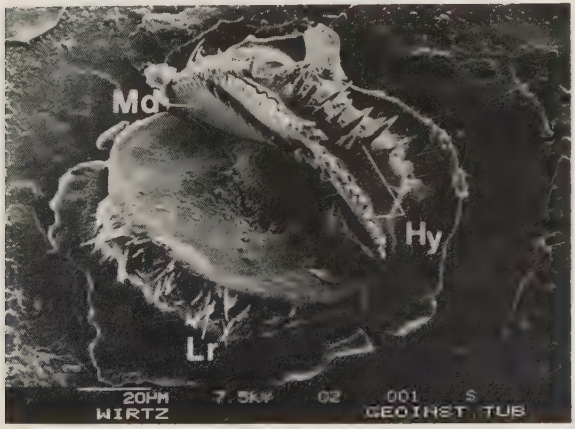


Abb. 12: Mundwerkzeuge auf der Membraninnenseite. Von unten nach oben: Labrum (Lr) mit Haaren, eine Mandibel (Md, links), kurze Lanzetten und lange Borsten des Hypopharynx (Hphx), Mundöffnung durch Blutrest verdeckt.

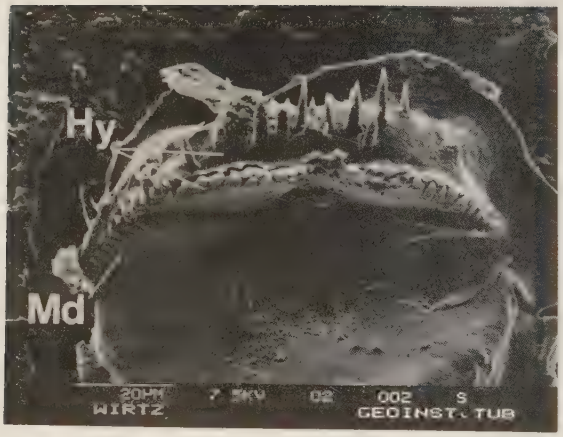


Abb. 13: Membraninnenseite: Caudale Hälfte der Wunde. Hypopharynx spaltet Öffnung auf. Nur eine Mandibel sichtbar.

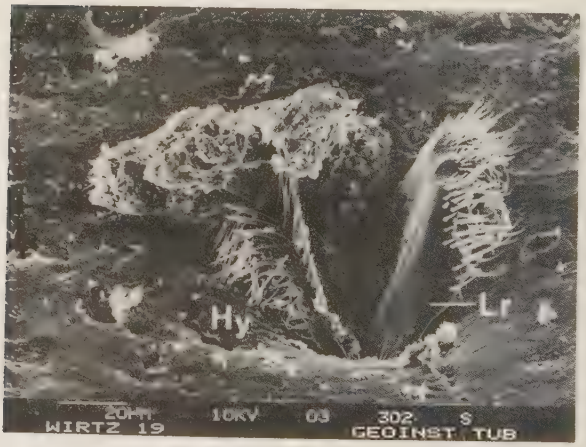


Abb. 14: Membraninnenseite: Labrum mit langen Haarborsten und Hypopharynx mit mehreren Zahn- bzw. Borstenreihen.

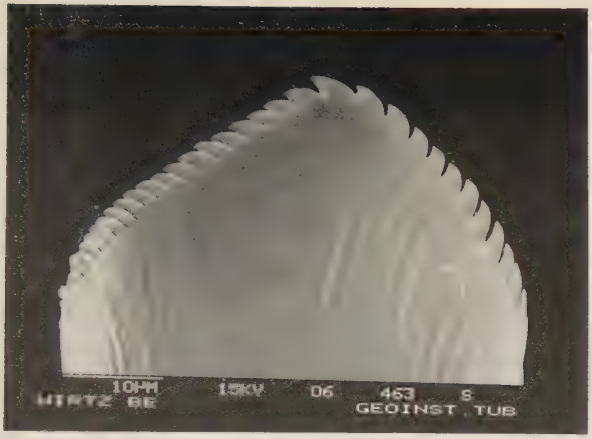


Abb. 15: Laterale und mediane Zahnreihe einer Mandibel von Boophthora erythrocephala.

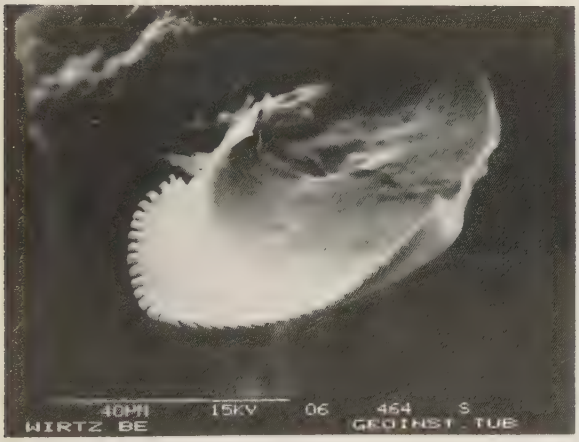


Abb. 16: Mandibel von B. erythrocephala von vorn: typische Löffelform

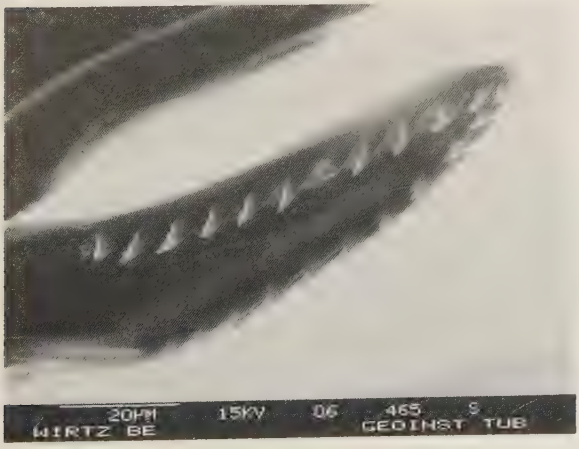


Abb. 17: Maxille von B. erythrocephala

V. LITERATUR

Barlow, C.A., 1955: The fecundity of Aedes hexodontus DYAR (Culicidae) in the laboratory. Can. J. Zoöl. 33, 420-427.

Bauer, B. and Wetzel, H., 1976: A new membrane for feeding Glossina morsitans WESTW. (Diptera : Glossinidae). Bull. ent. Res. 65, 563-565.

Boakye, D.A. and Raybould, J.N.: The effect of different methods of oviposition inducement on egg fertility rates in Simulium squamosum ENDERLEIN (Diptera: Simuliidae), in Vorbereitung.

Brenner, R.J., Cupp, E.W. and Bernardo, M.J., 1980: Laboratory colonization and life table statistics for geographic strains of Simulium decorum (Diptera: Simuliidae). Tropenmed. Parasit. 31, 487-497.

Cavalli-Sforza, L., 1972: Biometrie. Grundzüge biologisch-medizinischer Statistik. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 212 p.p.

Colbo, M.H., 1982: Size and fecundity of adult Simuliidae (Diptera) as a function of stream habitat, year, and parasitism. Can. J. Zool. 60, 2507-2513.

Cupp, E.W., 1981: Blackfly physiology. Aus:Laird, M. (ed.): Blackflies. The future for biological methods in integrated control. Academic Press, London, 199-206.

Dang, P.T. and Peterson, B.V., 1980: Pictorial keys to the main species and species groups within the Simulium damnosum THEOBALD complex occuring in West Africa (Diptera: Simuliidae). Tropenmed. Parasit. 31, 117-120.

Davies, D.M. and Anderson, E.L., 1967: Egg production of house-fly adults fed human blood containing various supplements. Proc. Entomol. Soc. Ont. 97, 111-114.

Davies, D.M. and Peterson, B.V., 1956: Observations on the mating, feeding, ovarian development, and oviposition of adult blackflies (Simuliidae: Diptera). Can. J. Zool. 34, 615-655.

Davies , L., 1955: Behaviour of young and old females of the blackfly, Simulium ornatum Mg. Nature, Lond. 176, 979-980.

Davies, L., 1957a: A study of the blackfly, Simulium ornatum Mg. (Diptera), with particular reference to its activity on grazing cattle. Bull. Ent. Res. 48, 407-424.

Davies, L., 1957b: A study of the age of females of Simulium ornatum Mg. (Diptera) attracted to cattle. Bull. Ent. Res. 48, 535-552.

Davies, L., 1965: On spermatophores in Simuliidae (Diptera). Proc. R. entomol. Soc. Lond. 40, 30-34.

Dethier, V.G., 1954: Notes on the biting response of the Tsetse flies. Am. J. Trop. Med. Hyg. 3, 160-171.

Dethier, V.G., 1955: The physiology and histology of the contact chemoreceptores of the blowfly. Quart. Rev. Biol. 30, 348-371.

Duke, B.O.L., 1962: Studies on factors influencing the tranmission of Onchocerciasis. I. The survival rate of Simulium damnosum under laboratory conditions and the effect upon it of Onchocerca volvulus. Ann. trop. Med. Parasit. 56, 130-135.

Friend, W.G., Choy, C.T.H.,and Cartwright, E., 1965: The effect of nutrient intake on the development and the egg production of Rhodnius prolixus Stahl (Hemiptera: Reduviidae). Can. J. Zool. 43, 891-904.

Friend, W.G. and Smith, J.J.B., 1971: Feeding in Rhodnius prolixus: Potencies of nucleoside phosphates in initiating gorging. J. Insect. Physiol. 17, 1315-1320.

Fiasorgbor, G.K., 1981: Cytotaxonomy of Simulium damnosum complex. unpublished document, OCP report Jan.-May 1981.

Galun, R., 1975: The role of host blood in the feeding behaviour of ectoparasites. Aus: Zuckermann, A. (ed.): Dynamic aspects of host-parasitic relationship 2, 132-162.

Galun, R., 1976: The physiology of hematophagous insect / animal host relationships. Proc. XV. Intern. Congress Entomol. Washington, 257-265.

Galun, R. and Margalit, J., 1969: Adenine nucleotides as feeding stimulants of the Tsetse fly Glossina austeni Newst. Nature 222, 583-584.

Gatehouse, A.G., 1970: The probing response of Stomoxys calcitrans to certain physical and olfactory stimuli. J. Insect. Physiol. 16, 61-74.

Gibbins, E.G., 1938: The mouthparts of the female in Simulium damnosum Theobald, with special reference to the transmission of Onchocerca volvulus Leuckart. Ann. Trop. Med.

Parasitol. 32, 9-20.

Gillies, M.T., 1980: The role of carbon dioxide in host-finding by mosquitoes (Diptera: Culicidae): a review. Bull. ent. Res. 70, 525-532.

Gordon, R.M. and Crewe, W., 1948: The mechanisms by which mosquitoes and Tsetse flies obtain their bloodmeal, the histology of the lesions produced, and the subsequent reactions of the mammalian host; together with some observations on the feeding of Chrysops and Cimex. Ann. Trop. Med. Parasitol. 42, 334-356.

Gordon, R.M., Crewe, W., and Willet, K.C., 1956: Studies on the deposition, migration, and development of the blood forms of trypanosomes belonging to the Trypanosoma brucei group. Ann. Trop. Med. Parasitol. 50, 426-437.

Gordon, R.M. and Lumsden, W.H.R., 1939: A study of the behaviour of the mouthparts of mosquitoes when taking up blood from living tissue; together with some observations on the ingestion of microfilariae. Ann. Trop. Med. Parasitol. 33, 259-278.

Grunewald, J., 1972: Die hydrochemischen Lebensbedingungen der präimaginalen Stadien von Boophthora erythrocephala De Geer (Diptera, Simuliidae). 1. Freilanduntersuchungen. Z. Tropenmed. Parasit. 23, 432-445.

Grunewald, J., 1973: Die hydrochemischen Lebensbedingungen der präimaginalen Stadien von Boophthora erythrocephala De Geer (Diptera, Simuliidae). 2. Die Entwicklung einer Zucht unter experimentellen Bedingungen. Z. Tropenmed. Parasit. 24, 232-249.

Grunewald, J. und Wirtz, H.P., 1978: Künstliche Blutfütterung einiger afrikanischer und palaearktischer Simuliiden (Diptera). Z. angew. Entomol. 85, 425-435.

Hechler, J. und Rühm, W., 1976: Ergänzende Untersuchungen zur potentiellen Natalität verschiedener Kriebelmückenarten (Simuliidae, Diptera). Z. angew. Entomol. 81, 208-214.

Klowden, H.J. and Lea, A.O., 1979: Oocyte maturation in the black-fly, Simulium underhilli Stone and Snoddy, resulting from blood enemas. Can. J. Zool. 57, 1344-1347.

Klunker, R., 1979: Überblick über die in vitro-Fütterung blutsaugender Arthropoden. Angew. Parasitol. 20, 88-108.

Krafchik, B., 1942: The mouthparts of blackflies with special reference to Eusimulium lascivum Twinn. Ann. Entomol. Soc. Am. 35, 426-434.

Lewis, D.J., 1960: Observations on Simulium damnosum in the Southern Cameroons and Liberia. Ann. Trop. Med. Parasitol. 54, 208-223.

Mann, H.B. and Whitney, D.R., 1947: On a test of whether one of two random variables is stochsatically larger than the other. Ann. Math. Statist. 18, 50-60.

Margalit, J., Galun, R., and Rice, M.J., 1972: Mouthpartsensilla of the Tsetse fly and their function. 1. Feeding patterns. Ann. Trop. Med. Parasitol. 66, 525-536.

McIver, S., Siemicki, R., and Sutcliffe, J., 1980: Bifurcate sensilla on the tarsi of female blackflies, Simulium venustum (Diptera: Simuliidae): Contact chemosensilla adapted for olfaction? J. Morphol. 165, 1-11.

McMahon, J.P., 1968: Artificial feeding of Simulium vectors of human and bovine Onchocerciasis. Bull. Wld Hlth Org. 38, 957-966.

McMahon, J.P. and Nelson, G.S., 1967: Feeding adult Simulium ornatum in the laboratory. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 61.

Mokry, J.E., 1976: A simplified membrane technique for feeding blackflies (Diptera: Simuliidae) on blood in the laboratory. Bull. Wld Hlth Org. 53, 127-129.

Mokry, J.E., 1980: Laboratory studies on blood-feeding of blackflies (Diptera: Simuliidae). 1. Factors affecting the feeding rate. Tropenmed. Parasit. 31, 367-373.

Muirhead-Thomson, R.C., 1966: Blackflies. Aus: Smith, C.N.: Insect colonization and mass production. Academic Press, New York, 127-144.

Ono, H., 1978: Description of a new Odagmia species, Odagmia nishijimai new spec. (Diptera: Simuliidae) from Japan. Kontyu 46, 43-51.

Peterson, B.V., 1970: The Prosimulium of Canada and Alaska (Diptera: Simuliidae). Mem. Entomol. Soc. Canada 69, 1-216.

Pusch, W. und Walch, A., 1982: Synthetische Membranen. Herstellung, Struktur und Anwendung. Angew. Chemie 94, 670-695.

Quillévéré, D., Sechan, Y. et Pendriez, B., 1977: Etude du Complexe Simulium damnosum en Afrique de l'Ouest. V. Identification morphologique des femelles en Cote d'Ivoire. Tropenmed. Parasit. 28, 244-253.

Raybould, J.N., 1967: A method of rearing Simulium damnosum Theobald (Diptera: Simuliidae) under artificial conditions. Bull. Wld Hlth Org. 37, 447-453.

Raybould, J.N., Barro, T., Sawadogo, R., and Mordzifa, F., 1982: A new simple technique for rearing F_1 progeny from females of the Simulium damnosum Theobald complex. Tropenmed. Parasit. 33, 87-93.

Raybould, J.N. and Grunewald, J., 1975: Present progress towards the laboratory colonization of African Simuliidae (Diptera). Tropenmed. Parasit. 26, 155-168.

Raybould, J.N. and Yagunga, A.S.K., 1969: Artificial feeding of East African female Simuliidae (Diptera), including vectors of human Onchocerciasis. Bull. Wld Hlth Org. 40, 463-466.

Reaumur, M. de, 1740: Memoires poir servier à l'histoire des insectes. T.4me, 2nd p: Histoire des Gallinsectes, des Progallinsectes, et des mouches âdeux ailes. Mantier, Amsterdam.

Rivosecchi, L., 1978: Simuliidae (Diptera, Nematocera). Fauna d' Italia 13, Ed. Calderini, Bologna, 533 p.p.

Roy, D.N., 1936: On the role of blood in ovulation in Aedes aegypti L. Bull. Entomol. Res. 27, 423-429.

Rühm, W., 1968: Ein Gerät zum Fixieren von Kaninchen bei Versuchen mit blutsaugenden Simuliiden. Angew. Parasitol. 9, 41-44.

Rühm, W., 1970: Untersuchungen über das physiologische Alter der Imagines von Boophthora erythrocephala De Geer und einiger anderer Simuliidenarten. Z. Parasitenk. 34, 207-225.

Rühm, W., 1973: Blutsaugen und Eiablage von Boophthora erythrocephala De Geer im Labor sowie Kreuzungsexperimente zwischen Boophthora-Populationen verschiedener Generationen

und Herkunft. Z. angew. Zool. 60, 299-320.

Rühm, W., 1981: Ursachen des aperiodischen Schadauftretens blutsaugender Kriebelmückenarten in Mitteleuropa (Simuliidae, Diptera). Mitt. dtsch. Ges. allg. angew. Entomol. 3, 283-286.

Rühm, W. und Hechler, J., 1974: Untersuchungen über die potentielle Natalität verschiedener mammalophiler Kriebelmückenarten unter besonderer Berücksichtigung von Boophthora erythrocephala De Geer. Z. angew. Entomol. 77, 19-31.

Rutschke, J., 1982: Der Einfluß verschiedener Parameter auf die Überlebensrate der Imagines von fünf verschiedenen Simuliiden-Arten (Diptera) im Laboratorium. Diplomarbeit Biologie, Tübingen.

Schiemenz, H., 1957: Vergleichende funktionell-anatomische Untersuchungen der Kopfmuskulatur von Theobaldia und Eristalis (Diptera, Culicidae und Syrphidae). Dtsch. entomol. Zschr. N.F. 4, 268-331.

Schumann, W., 1982: Hydrierung in homogener Lösung mit löslichen polymer-gebundenen Hydrierkatalysatoren. Dissertation Chemie, Tübingen.

Simmons, K.R. and Edman, J.D., 1978: Successful mating, oviposition, and complete generation rearing of the multivoltine blackfly Simulium decorum (Diptera: Simuliidae) in the laboratory. Can. J. Zool. 56, 1223-1225.

Simmons, K.R. and Edman, J.D., 1981: Sustained colonization of the blackfly Simulium decorum Walker (Diptera: Simuliidae). Can. J. Zool. 59, 1-7.

Simmons, K.R. and Edman, J.D., 1982: Laboratory colonization of the human Onchocerciasis vector Simulium damnosum complex (Diptera: Simuliidae), using an enclosed, gravity-trough rearing system. J. med. Entomol. 19, 117-126.

Sutcliffe, J.F. and McIver, S.B., 1975: Artificial feeding of simuliids (Simulium venustum): Factors associated with probing and gorging. Experienta 31, 694-695.

Sutcliffe, J.F. and McIver, S.B., 1979: Experiments on biting and gorging behaviour in the blackfly, Simulium venustum. Physiol. Entomol. 4, 393-400.

Tate, P. and Vincent, M., 1939: The biology of anautogenous races of Culex pipiens. Parasitol. 28, 115-145.

Tarshis, J.B., 1958: A preliminary study on feeding Ornithodorus savignyi (Audouin) on human blood through animal-derived membranes (Acarina: Argasidae). Ann. ent. Soc. Amer. 51, 294-299.

Vale, G.A., 1974: New field methods for studying the responses of Tsetse flies (Diptera: Glossinidae) to hosts. Bull. ent. Res. 64, 199-208.

Wenk, P., 1962: Anatomie des Kopfes von Wilhelmia equina L. ♀ (Simuliidae syn. Melusinidae, Diptera). Zool. Jb. Anat. Ed. 81-134.

Wenk, P., 1965: Über die Biologie blutsaugender Simuliiden (Diptera). 3. Kopulation, Blutsaugen und Eiablage von Boophthora erythrocephala De Geer im Laboratorium. Z. Tropenmed. Parasit. 16, 207-226.

Wenk, P. and Raybould, J.N., 1972: Mating, blood feeding, and oviposition of Simulium damnosum Theobald in the laboratory. Bull. Wld Hlth Org. 47, 627-634.

Wenk, P. und Schlörer, G., 1963: Wirtsorientierung und Kopulation bei blutsaugenden Simuliiden (Diptera). Z. Tropenmed. Parasit. 14, 177-191.

Wetzel, H., 1979a: Artificial membrane for in vitro feeding of piercing-sucking arthropods. Entomol. Exp. Appl. 25, 117-119.

Wetzel, H., 1979b: Züchtung von Tsetse-Fliegen mit Membranfütterung (Glossina spp., Diptera, Glossinidae). Habilitationsschrift, GSF-Bericht BT 57 I, 191 p.p.

Wetzel, H., 1980: The use of freeze-dried blood in the membrane feeding of Tsetse flies (Glossina p. palpalis, Diptera: Glossinidae). Tropenmed. Parasit. 31, 259-274.

Wetzel, H. and Luger, D., 1978: In vitro feeding in the rearing of Tsetse flies (Glossina m. morsitans and G. p. palpalis, Diptera: Glossinidae). Tropenmed. Parasit. 29, 239-251.

Wigglesworth, V.B., 1960: Nutrition and reproduction in insects. Symp. Proc. 19, 18-23.

Wirtz, H.P. and Grunewald, J., 1980: Artificial blood feeding of

palaearctic blackflies (Diptera: Simuliidae) through membranes. Zbl. Bakt. Hyg. 267, 320.

Wirtz, H.P. und Grunewald, J., 1981: Künstliche Blutfütterung einiger einheimischer Simuliiden (Diptera). Mitt. dtsch. Ges. allg. angew. Entomol. 3, 97-99.

Woke, P.A., 1937: Comperative effects of the blood of man and of canary on egg-production of Culex pipiens L. J. Parasit. 23, 311-313.

LEBENSLAUF

Wirtz, Hans-Peter, geboren am 31. Oktober 1948 in Cochem/Mosel als Sohn des damaligen Angestellten Philipp Wirtz und seiner Ehefrau Maria, geb. Mayerhöffer

1956	Eintritt in die Volksschule Cochem
1960	Eintritt in das Staatliche Martin-von-Cochem-Gymnasium (neusprachlich) in Cochem
1969	Reifeprüfung an diesem Gymnasium
1969	Beginn des Studiums der Biologie an der Universität Tübingen
1971	Vorprüfung zur Diplomprüfung in Biologie
1976	Diplomprüfung in Biologie mit den Fächern Zoologie, Genetik, Humangenetik und Anthropologie, Geologie, Zusatzfach Parasitologie
	Diplomarbeit bei Prof. Dr. P. Wenk am Tropenmedizinischen Institut der Universität Tübingen
1976 - 1977	Untersuchungen zur Larvenentwicklung von Simuliiden
Mai 1978 - Okt. 82	Experimenteller Teil der Dissertation unter Anleitung von Dr. habil. J. Grunewald am Tropenmedizinischen Institut
1978 - 1981	Laborant am Tropenmedizinischen Institut
Seit April 1981	Verwalter einer wissenschaftlichen Angestelltenstelle an diesem Institut
Seit Oktober 1980	bin ich verheiratet

Meine akademischen Lehrer

Zoologie und Parasitologie:	Prof. Dr. D. Ammermann, Prof. Dr.K.G. Grell, Dr. habil. J. Grunewald, Prof. Dr.E. Kulzer Dr. G. Mickoleit, Prof. Dr.F.P. Möhres, Prof. Dr. W. Pfeiffer, Prof. Dr. P. Wenk
Genetik:	Prof. Dr. W. Seyffert, Prof. Dr. K. Wöhrmann
Humangenetik und Anthropologie :	Prof. Dr. W.E. Haberlandt, Prof. Dr.Dr. H. Ritter, Prof. Dr. J. Schmitt
Geologie:	Prof. Dr. J. Loeschke, Prof. Dr. R. Schönenberg, Prof. Dr. A. Seilacher, Prof. Dr. J. Wendt